



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS EN MEDIO AMBIENTE  
CIEMA-UNI



**Biorremediación de suelos contaminados por organoclorados mediante la  
estimulación de microorganismos autóctonos, utilizando biosólidos**

Tesis sometida a la consideración del Centro de Investigación y Estudios en Medio  
Ambiente para optar al título de Maestro en Ciencias Ambientales

**Tesistas: Lic. Luisa F. Durán A.**

**Lic. Marvelis J. Ladera H.**

**Tutor: Msc. María Elena López**

**Asesor: Msc. Lúa Toruño**

Managua, Nicaragua, julio 2010

Managua, 25 de Marzo de 2010

Estimada.

**MSc. Lúa Toruño Vallecillo**  
**Coordinadora de la Maestría en Ciencias Ambientales**  
**Centro de Investigación y Estudios en Medio Ambiente (CIEMA)**

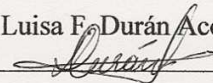
Presente.-

Nosotras, Licenciada Luisa F. Durán A. y Licenciada Marvelis J. Ladera H. alumnas activas de la Maestría en Ciencias Ambientales del Centro de Investigación y Estudios en Medio Ambiente (CIEMA). Nos dirigimos a usted, en la oportunidad de solicitar ante su coordinación e instancias respectivas, la inscripción formal del protocolo de tesis que actualmente ejecutamos como pre-requisito para optar al título de Maestro en Ciencias Ambientales que otorga esta institución y que lleva por título **“Evaluación de la Biorremediación de Suelos Contaminados por Organoclorados Mediante la Estimulación de Microorganismos Autóctonos, Utilizando Biosólidos”**. Por consiguiente, sometemos a evaluación y aceptación a la MSc. María Elena López, como nuestra tutora formal, por su ardua experiencia en el campo de biorremediación de suelos en la empresa Environmental Protection & Control (EPC). Como asesores, proponemos: en el área de microbiología a la MSc. Lúa Toruño Vallecillo, por su destacada labor en el área de microbiología del laboratorio de aguas del Centro de Investigación y Estudios en Medio Ambiente (CIEMA-UNI) y el Ing. Gustavo Valverde, por su experiencia y ejemplar desempeño en la docencia y evaluación de parámetros fisicoquímicos de suelos en la Universidad Nacional Agraria (UNA), todos, esenciales para el desarrollo y culminación de nuestro trabajo de tesis.

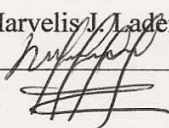
Sin otro particular y agradeciendo el apoyo que nos pueda brindar ante lo planteado, se despiden;

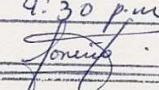
Atentamente

Luisa F. Durán Acosta.



Marvelis J. Ladera H.



<b>RECIBIDO</b>	
ACADEMICA - CIEMA	
FECHA:	26/03/2010
HORA:	4:30 p.m.
FIRMA:	

Cc: Sagrario Espinal- Secretaria Académica de la Maestría en Ciencias Ambientales del Centro de Investigación y Estudios en Medio Ambiente de la Universidad Nacional de Ingeniería (CIEMA-UNI).





Managua, 08 de Mayo de 2010

**Lic. Luisa F. Duran Acosta**  
**Lic. Marvelis J. Ladera Hernández**  
Maestranter en Ciencias Ambientales

Estimadas Licenciadas

Por medio de la presente tengo a bien informarles que en acta No 02 - 2010 del Consejo Académico del CIEMA del día lunes 04 de mayo del año en curso, se aprobó el protocolo de Investigación con el tema: **"Biorremediación de Suelos Contaminados por Organoclorados Mediante la Estimulación de Microorganismos Autóctonos, utilizando Biosólidos"**,

En base a la misma acta 02-2010 se acordó cumplir con las normativas del Reglamento de Culminación de Estudios de las Maestrías para la elaboración y defensa de tesis. Así mismo se confirmó como Tutor a la MSc. María Elena López y como Asesor a la MSc. Lúa Toruño Vallecillo

Sin más que agregar y deseándoles éxitos en la realización del trabajo para optar al título de Maestría, me suscribo

Atentamente:

  
MSc Lúa Toruño Vallecillo  
Coordinadora de Maestría en  
Ciencias Ambientales  
CIEMA - UNI



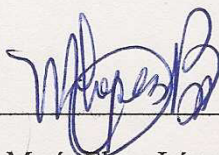
cc/ MSc Sergio Gámez G  
MSc Sagrario Espinal M  
Archivo

Director CIEMA  
Secretaría Académica CIEMA

## APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi carácter de tutor de la tesis, **“Biorremediación de Suelos Contaminados por Organoclorados mediante la Estimulación de Microorganismos Autóctonos, Utilizando Biosólidos”**, presentada por las estudiantes de Maestría en Ciencias Ambientales Lic. *Luisa Francisca Durán Acosta* y Lic. *Marvelis Josefina Ladera Hernández*, para optar al Grado de Master en Ciencias Ambientales, considero que dicha tesis reúne los requisitos y meritos suficientes para ser sometida a la presentación pública y evaluación por parte del jurado examinador que se designe.

Dado en la ciudad de Managua, Nicaragua, a los Veintidós Días del mes de Junio del año Dos Mil Diez.



Ing. María Elena López Blanco



C.I.: 284-160859-0000F

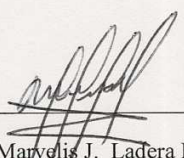


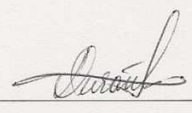
Managua, 22 de Junio de 2010.

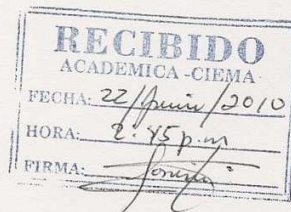
**Estimada:**  
**Prof. Lúa Toruño**  
**Coordinadora Maestría en Ciencias Ambientales del Centro de Investigación y**  
**Estudios en Medio Ambiente (CIEMA-UNI).**  
**Presente-.**

Nosotras, *Luisa Francisca Durán Acosta* y *Marvelis Josefina Ladera Hernández*, en el carácter de autoras de la tesis “Biorremediación de Suelos Contaminados por Organoclorados Mediante la Estimulación de Microorganismos Autóctonos, Utilizando Biosólidos”. Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos culminado nuestro trabajo de tesis para optar al Grado de Maestro en Ciencias Ambientales, por lo que solicitamos el nombramiento y evaluación por parte del jurado examinador.

En la ciudad de Managua, Nicaragua, a los 22 días del mes de Junio del año 2010.

  
Lic. Marvelis J. Ladera H.

  
Lic. Luisa F. Durán A.





Managua, 09 de Julio de 2010.

**Estimada:**

**Prof. Lúa Toruño**

**Coordinadora Maestría en Ciencias Ambientales del Centro de Investigación y Estudios en Medio Ambiente (CIEMA-UNI).**

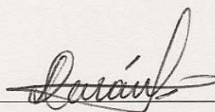
**Presente-.**

Nosotras, *Luisa Francisca Durán Acosta y Marvelis Josefina Ladera Hernández*, en el carácter de autoras de la tesis “Biorremediación de suelos contaminados por organoclorados mediante la estimulación de microorganismos autóctonos, utilizando biosólidos”. Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos finalizado la incorporación de las correcciones y sugerencias en nuestro trabajo de tesis para optar al Grado de Maestro en Ciencias Ambientales, en cumplimiento con las observaciones emitidas por parte del jurado examinador asignado. Por lo que solicitamos la defensa y evaluación del documento de tesis referida.

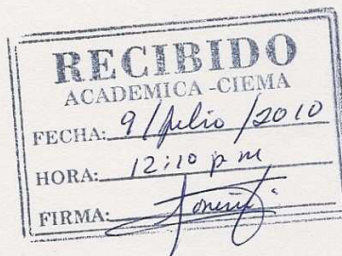
En la ciudad de Managua, Nicaragua, a los 09 días del mes de Julio del año 2010.



Lic. Marvelis J. Ladera H.



Lic. Luisa F. Durán A.







Managua, 08 de Julio de 2010

**Lic. Luisa Duran**

**Lic. Marvelis Ladera**

Sus Manos

Estimadas Estudiantes

Por medio de la presente tengo a bien informarles que el Centro de Investigación y Estudios en Medio Ambiente (CIEMA) ha programado su Defensa de Tesis titulada *"Biorremediación de Suelos Contaminados por Organoclorados Mediante la Estimulación de Microorganismos Autóctonos, utilizando Biosólidos"* para optar al Título de Maestro en Ciencias Ambientales respectivamente que otorga la Universidad Nacional de Ingeniería.

El jurado está conformado de la siguiente manera:

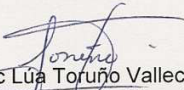
- |                         |            |
|-------------------------|------------|
| • Dra. Teresa Rodríguez | Presidente |
| • MSc. Elda Escobar     | Secretario |
| • MSc. Gustavo Valverde | Vocal      |

También se le comunica la fecha, hora y sitio de la defensa de dicha tesis

Fecha de Defensa :	Martes 13 de Julio del 2010
Hora :	4: 30 PM
Local :	Aula de Maestría del CIEMA – UNI

Agradeciéndole de antemano la atención a la presente y deseándole éxito. Me suscribo.

Atentamente

  
MSc Lúa Toruño Vallecillo  
Coordinadora de Maestría CA  
CIEMA - UNI



cc/ MSc Sagrario Espinal  
Archivo

Secretaría Académica

## DEDICATORIA

### *A Dios*

*Quien nos ha resguardado en su manto y nos ha dado la sabiduría, fuerza y perseverancia para llevar a feliz término el desarrollo de este estudio. Siendo Nuestra mayor fortaleza en los momentos que más requerimos de una mano que nos permitiera levantarnos ante las adversidades y abatir los obstáculos que afrontamos al recorrer este camino, que hoy por hoy, nos hemos trazado como parte de nuestra formación y crecimiento, no solo profesional sino también personal y espiritual, en el que Dios nos hizo ver que realmente Él es nuestro sustento y a Él le debemos nuestros sueños, metas y esperanzas, que no se terminan aquí, sino que abren una puerta más para obtener la grandeza que solo él nos permite alcanzar.*

*Gracias Dios, Eres Nuestro Sustento...*

*Los que confían en el Señor renuevan las fuerzas, echan alas como de águila, corren sin cansarse y caminan sin fatigarse.*

*Isaías, 40:31*

*Marvelis L; Luisa D.*

## **A Nuestros Padres;**

*José Gregorio García Cuba*, por haber sido un padre ejemplar y porque gracias a ti he llegado hasta este escalón, que es solo un peldaño de la formación de la que tu estuvieses completamente orgulloso de estar con nosotros en este momento. Solo Dios conoce tu partida y fue él quien me dio la fortaleza para continuar éste camino que tú me ayudaste a emprender. Siempre estarás en mi corazón y en cada paso de mi vida.

*Carmen Elena Hernández Mata*, por su apoyo incondicional en los momentos más difíciles, siendo el motivo principal en mis logros académicos y personales, quien más que una madre, es una amiga en la que puedo confiar mis sueños, mis metas, mi alegría y tristeza, mujer de temple y pilar fundamental de la familia, quien ha luchado cada día por mi formación y la de mis hermanos. Incondicionalmente Madre, Dios te Bendiga Siempre...

*Griseida Viana*, docente, amiga y madre. Porque siempre has estado presente en cada etapa de mi formación y con tus consejos y sabiduría has guido mis pasos, tu apoyo incondicional es fortaleza en los momentos de dificultad en los que una voz tenue alivia la tormenta y renueva las fuerzas. Dios te Bendiga...

*Marvelis L.*

A mi madre *María Luisa Acosta*, por ser padre y madre a la vez, por su lucha incansable de sacarnos a mis hermanos y a mí adelante, por ser mi apoyo y mi guía en todo momento, por su paciencia, dedicación y confianza. Sin ella no hubiese llegado a donde estoy ahora. Dios la bendiga siempre y le dé mucha salud.

*Luisa D.*

## AGRADECIMIENTOS

**A todas aquellas personas que contribuyeron a la realización de este estudio.**

A la *Fundación Gran Mariscal de Ayacucho*, por apoyarnos y contribuir en alcanzar un escalafón más de nuestro desarrollo profesional, permitiéndonos conocer nuevos horizontes siendo parte del gentilicio de nuestra América. A ellos porque sin su ayuda no hubiésemos logrado este objetivo

Muy especialmente al Ingeniero *Pedro Penso*, por estar allí en todo momento como amigo, guía, apoyo y protector.

A la Profesora *Lúa Toruño* por su paciencia, orientación y su camaradería, lo que nos dio la confianza y fortaleza para nuestro desenvolvimiento y llevar a feliz término esta meta que juntas nos propusimos alcanzar.

Al Profesor Gustavo Valverde, por su colaboración para la realización de los ensayos.

Al Profesor *Eduardo Jacotin* por su iniciativa y apoyo en la búsqueda de información e insumos para emprender este estudio.

Al Señor *Sergio Salazar* por su valiosa ayuda y aporte determinante a la realización de este estudio.

A la Señora *Yelba Ayerdis*, por su paciencia y cooperación para llevar a feliz término esta investigación.

A la Profesora *Teresa Rodríguez*, por su valioso aporte en el desarrollo final de este trabajo de investigación.

A la empresa EPC y la Ingeniera *María Elena López* por su apoyo en el desarrollo de este ensayo, en especial a los compañeros (Bismarck Ramos, Ángel Picado, Daniel Ramírez y Jovart Zamora) por su oportuna y desinteresada ayuda durante este proceso.

A la Profesora Glenda Bonilla por ser parte de nuestra incansable búsqueda de un tutor.





REPÚBLICA DE NICARAGUA  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS EN MEDIO AMBIENTE



**Biorremediación de suelos contaminados por organoclorados mediante la estimulación de microorganismos autóctonos, utilizando biosólidos.**

**Tesis para optar al Grado de Maestro en Ciencias Ambientales**

**Tesistas:** Lic. Marvelis Ladera  
Lic. Luisa Durán

**Tutor:** Msc. María López

**Asesor:** Msc. Lúa Toruño

**Fecha:** julio de 2010.

**RESUMEN**

La presente investigación evaluó el proceso de biorremediación de plaguicidas organoclorados en un suelo del aeródromo agrícola “El Picacho” del Departamento de Chinandega, Nicaragua, en el que se registran grandes concentraciones de residuos del contaminante toxafeno. Para efectos de este estudio, se empleó la técnica de bioestimulación en el proceso de biorremediación, utilizando biosólidos como fuente de nutrientes esenciales para los microorganismos. El diseño experimental constó de 2 bloques completamente aleatorizados, cada uno con 3 unidades experimentales, contemplando 6 microcosmos de suelo. A cada tratamiento se agregó diferentes proporciones de biosólido estableciendo relaciones suelo:biosólido de 71:29 y 77:23. Al finalizar los tratamientos se obtuvieron porcentajes de remediación entre 84% y 69% respectivamente. Esto evidencia la efectividad de los biosólidos como fuente de nutrientes para la estimulación metabólica de microorganismos autóctonos en el proceso de biorremediación de suelos contaminados con toxafeno.

**Descriptores:** Biorremediación, Bioestimulación, Plaguicidas, Organoclorados, Biosólidos, Toxafeno.

## ÍNDICE GENERAL

	pg
Dedicatoria.....	viii
Agradecimientos.....	x
Resumen.....	xi
<b>CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Objetivos.....	2
General.....	2
Objetivos específicos.....	2
1.2 Antecedentes.....	3
1.3 Generalidades.....	7
1.4 Planteamiento del problema.....	8
1.5 Justificación.....	9
1.6 Formulación de hipótesis.....	11
<b>CAPITULO II MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>12</b>
2.1 Plaguicidas.....	12
2.1.1 Clasificación de los plaguicidas.....	12
2.1.2 Transformación de los plaguicidas en el suelo y subsuelo.....	13
2.1.3 Lixiviación de plaguicidas a los acuíferos.....	14
2.1.4 Factores que afectan el movimiento de los plaguicidas.....	14
2.1.5 Características del suelo que influyen en los diferentes procesos de la dinámica de los plaguicidas.....	15
2.1.6 Efectos de los organoclorados en los organismos.....	15
2.1.6.1 Concentraciones máximas permisibles de lixiviados en suelo (decreto 2635 de la república bolivariana de Venezuela).....	16
2.2 Características generales del toxafeno.....	16
2.2.1 Propiedades físico-químicas.....	17
2.2.2 Efectos en el ambiente.....	18
2.3 Técnica de biorremediación.....	18
2.3.1 Presencia de microorganismos en el suelo.....	19

2.4 Lodos biológicos o biosólidos.....	20
2.4.1 Aplicación de biosólidos en los suelos.....	21
2.4.1.1 Ventajas.....	21
2.4.1.2 Requerimientos.....	22
2.4.1.3 Estándares para la aplicación y disposición de lodos de aguas residuales. Agencia de protección ambiental (EPA).....	22
2.4.1.4 Tipos de lodos según la EPA.....	22
<b>CAPÍTULO III MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>24</b>
3.1 Diseño de la investigación.....	24
3.2 Universo de estudio.....	24
3.3 Muestreo de suelo.....	25
3.4 Muestreo de biosólidos.....	25
3.5 Etapas de monitoreo del ensayo.....	26
3.6 Procedimientos de análisis de laboratorio.....	26
3.6.1 Caracterización físico-química y microbiológica de las muestras de suelo.....	26
3.6.2 Caracterización físico-química y microbiológica de biosólidos.....	27
3.6.3 Determinación de concentración de organoclorados en muestras de suelo.....	28
3.7 Diseño y unidad experimental.....	29
3.8 Formulación de variables.....	30
3.9 Análisis de .datos.....	31
<b>CAPÍTULO IV RESULTADO Y ANÁLISIS.....</b>	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>42</b>
Limitaciones.....	45
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>46</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1:</b> Resultados físico-químicos de las muestras de biosólido y suelo.....	33
<b>Cuadro 2:</b> Monitoreo analítico del tratamiento aplicado.....	33
<b>Cuadro 3:</b> Concentración del organoclorado (toxafeno) en el suelo.....	34
<b>Cuadro 4:</b> caracterización microbiológica del suelo UFC.....	40

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1:</b> Coliformes fecales al inicio y final de ensayo de biorremediación.....	35
<b>Gráfico 2:</b> Porcentaje de biorremediación del organoclorados (toxafeno).....	36
<b>Gráfico 3:</b> Población microbiana en los tratamientos.....	37
<b>Gráfico 4:</b> Concentración y biorremediación de toxáfeno.....	38
<b>Gráfico 5:</b> Crecimiento microbiano inicial y final (0-73 días).....	39

## LISTA DE ANEXOS

<b>ANEXO A:</b> Resultados oficiales caracterización físico-química de suelo y biosólido..	50
<b>ANEXO B:</b> Resultados oficiales caracterización microbiológica de suelo y biosólido.	56
<b>ANEXO C:</b> Resultados oficiales concentración de organoclorados.....	63
<b>ANEXO D:</b> Fotografía zona de muestreo de suelo.....	71
<b>ANEXO E:</b> Fotografía ensayo de tratabilidad de suelo.....	73



## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

El suelo, representa un componente ambiental imprescindible para el asentamiento de las actividades esenciales en el desarrollo humano y actividades como la agricultura han incrementado el número de suelos afectados con plaguicidas, ocasionando también impactos severos a los recursos acuáticos e incluso a la salud humana. Ante esta situación actualmente se han desarrollado alternativas para mitigar este impacto y técnicas como la biorremediación, resultan una alternativa económica y viable en la que los microorganismos son la herramienta más importante en el proceso de descontaminación, ya que estos hacen uso del contaminante como fuente de energía para su metabolismo disminuyendo la disponibilidad del mismo en los suelos afectados.

La bioestimulación es una alternativa de remediación biotecnológica, que permite activar el potencial degradativo que poseen un gran número de microorganismos ante la presencia de contaminantes en el ambiente, de esta manera la biota puede utilizar el contaminante como fuente de carbono para sus funciones metabólicas vitales logrando disminuir la contaminación. Para acelerar este potencial se requiere la incorporación de los nutrientes esenciales para el buen desempeño de los microorganismos, de esta manera, se garantiza que estos actúen efectivamente en la descomposición del contaminante, logrando degradarlo hasta una forma más simple o menos tóxica.

En el presente estudio se estimularon los microorganismos autóctonos presentes en suelos contaminados por toxafeno, mediante la aplicación de biosólidos procedentes de plantas de tratamiento de aguas domiciliarias, con el fin de alcanzar el objetivos de la remediación del suelo, además de proporcionar una alternativa para el debido manejo ambiental de los lodos producto del tratamiento de aguas residuales domésticas, cuya disposición final resulta una problemática ambiental por la afectación de cuerpos de agua y espacios en los que son finalmente vertidos.

Este documento refleja cada una de las etapas a seguir para lograr estimular el potencial degradativo de los microorganismos autóctonos de suelos contaminados con organoclorados, sin la adición de sustancias sintéticas como estimulante, aprovechando los nutrientes orgánicos que se pueden obtener de los biosólidos.

## **1.1 Objetivos**

### **General**

Evaluar la eficiencia en la biorremediación de suelos contaminados con organoclorados procedentes del aeródromo agrícola El Picacho en Chinandega, a través de la estimulación de microorganismos autóctonos utilizando biosólidos.

### **Específicos**

1. Caracterizar las propiedades físico-químicas y microbiológicas de un suelo contaminado por el uso de organoclorados procedentes del aeródromo agrícola El Picacho en Chinandega y biosólidos provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales domésticas del residencial Ciudad Real-Managua.
2. Identificar los tipos y concentraciones de organoclorados en la muestra de suelo.
3. Determinar la eficacia de la utilización de biosólidos para la estimulación de los microorganismos autóctonos en la remediación de suelos contaminados con organoclorados.
4. Valorar la capacidad biorremediadora de microorganismos autóctonos identificados en las muestras de suelo contaminados con organoclorados.

## 1.2 Antecedentes

Actualmente, en Nicaragua existe carencia en estudios de caracterización de suelos contaminados y/o biorremediación de los mismos. Sin embargo, a continuación se presentan algunos estudios realizados en diferentes países documentados durante la fase de recolección de información y que sirven de orientación y sustento para el desarrollo de esta investigación.

Actualmente se llevan a cabo estudios de biorremediación en el que utilizan biosólidos como fuente de nutrientes, como el reportado por Álvarez, (s/f). “Utilización de fangos digeridos en el proceso de biorremediación de residuos sólidos petrolizados” cuyo objetivo fue aplicar la técnica de bioestimulación de microorganismos autóctonos para disminuir la carga de hidrocarburos en suelos de la Cantera Birama perteneciente a una empresa petrolera. Para ello, realizó la caracterización química y microbiológica de los suelos ubicados en la zona afectada y del lodo residual procedente de una planta de tratamiento de aguas albañales como fuente de microorganismos y nutrientes esenciales. El ensayo tuvo una duración de 80 días, tiempo en el que se logró reducir los niveles de hidrocarburos hasta valores cercanos al 1%, límite recomendado por la literatura especializada para suelos recuperados mediante procesos biodegradativos.

Otra investigación evaluó la aplicación de lodos estabilizados en el proceso de biorremediación de suelos afectados por hidrocarburos en el campo Moga del Estado Zulia en Venezuela. Para ello, se aislaron 4 cepas bacterianas del suelo contaminado que integraban un cultivo mixto para la prueba de tratabilidad, aplicándose la técnica de compostaje con lodos estabilizados como esponjante, previo análisis y evaluación de su posible carga contaminante; así mismo a los ensayo se añadió nitrógeno y fósforo. Finalmente los ensayos que contenían la fracción de lodo, mostraron una correlación significativa entre la del porcentaje final de hidrocarburo y el crecimiento bacteriano, lo que demuestra mayor remoción y eficiencia de la utilización de esta alternativa en la biorremediación de suelos (Araujo *et al.*, 2007).

De igual forma, en Colombia se realizó un estudio sobre la “Biodegradación del organoclorado-aldrin a partir de cepas aisladas de un consorcio bacteriano aeróbico de la Ciénaga Grande de Santa Marta”, el objetivo fue aportar información sobre la utilidad de

los microorganismos como biorremediadores, mediante la medición de la capacidad biodegradadora de aldrin por cepas bacterianas. Para ello, seleccionaron cuatro estaciones de muestreo: Río Sevilla, Boca Caño Clarín, Boca de la Barra y Centro por estar estos puntos ubicados de tal forma que concentran los residuos procedentes del continente. Se colectaron muestras de sedimento superficial (150 g aproximadamente), al igual que muestras de agua tomadas a una profundidad de 30 cm, las cepas fueron aisladas en el laboratorio por el método de conteo en placa, después del tiempo de incubación cuatro cepas toleraron la exposición al aldrin, estas fueron: *Enterobacter cloacae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus pumilus*. Para medir la capacidad biodegradadora de cada cepa, se expusieron individualmente durante 0, 15 y 30 días en un medio de sales mínimas adicionando 60 ng/l de aldrin. Al finalizar el bioensayo se encontró que cada una de las cepas no solamente tuvieron la capacidad de tolerar el plaguicida a una concentración de 60 ng/l, sino que fueron capaces de degradarlo, siendo esta degradación durante los primeros quince días, más rápida que en los quince días restantes donde disminuyó (Reyes *et al.*, 2006).

Otro estudio, en el que se analiza la biorremediación como una alternativa saludable frente al deterioro progresivo de la calidad del medio ambiente por el derramamiento de crudos. Se identificó la *Pseudomonas* como uno de los microorganismos degradadores y plantea que, esta especie es un saprofito del suelo, oportunista, cosmopolita, metabólicamente versátil, por poseer una dioxigenasa inicial, una tolueno dioxigenasa, aunque no presenta la dioxigenasa específica para los PAHs por lo cual es una buena candidata para las aplicaciones biotecnológicas, tales como agricultura, biocatálisis, biorremediación (López *et al.*, 2006).

Por su parte, una síntesis elaborada por el Ministerio del Ambiente y Energía de Costa Rica, Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales de Nicaragua, el fondo para el Medio Ambiente Mundial, el programa de las Naciones Unidas para medio ambiente y la Unidad de Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente en el (2004). Titulada “Formulación de un programa de acciones estratégicas para la gestión integrada de los recursos hídricos y el desarrollo sostenible de la cuenca del Río San Juan y su zona costera (Procuenca San Juan)”, concluyen que los plaguicidas organoclorados persistentes OCP detectados tanto en



sedimentos suspendidos como el fondo del lago Cocibolca, sus atributos y los del Río San Juan en el sector Nicaragüense son el DDT y DDE con 199,78 p/g y 790,27 p/g respectivamente, Lindano 55, 57p/g, el Aldrin con 67,76 picogramos/g y cuyo nivel mínimo es de 10 picogramos/g y el Dieldrin de acuerdo con los niveles encontrados.

En este sentido, se lleva a cabo el proyecto “Reducción del escurrimientos de plaguicidas al Mar Caribe” bajo la coordinación del Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales de Nicaragua, en el que se elaboró un estudio determinando la incidencia de las prácticas agrícolas en el escurrimientos de plaguicidas al mar Caribe, para ello se basan en estudios analíticos realizados por el MARENA entre 1994 y 1999, en los que se muestrearon diferentes zonas agrícolas del país. Este estudio reveló la existencia de numerosas zonas contaminadas por el uso de plaguicidas, entre los que se pueden mencionar el aeródromo El Picacho (5600 mg/kg suelo) y terrenos de la bodega La Esperanza ubicados en las inmediaciones de Chinandega (2900 mg/kg suelo), el aeródromo Godoy en León (3500 mg/kg suelo) y los terrenos de la bodega Gadala María en Managua (esta última no fue muestreada por el riesgo de romper envases de plaguicidas enterrados en los suelos). En este sentido, sobre la base de los datos recopilados se estimó que el arrastre de plaguicidas hacia el Caribe Nicaragüense alcanza unas 13 mil toneladas métricas de ingredientes activos por año lo que conlleva a un riesgo de contaminación debido al grado de persistencia de los plaguicidas (Vaughan y Romero, 2000).

En Nicaragua, los plaguicidas organoclorados especialmente el DDT y toxafeno, se utilizaron a partir de los años 50 en el cultivo masivo de algodón. La falta de control de estos plaguicidas permitió la contaminación de la región del pacífico donde hasta 1991 se cultivaron hasta 250.000 ha de algodón con 30 a 35 aplicaciones de diferentes plaguicidas por ciclo de vegetación. El uso y manejo inadecuado de estos plaguicidas ha producido una extensa contaminación de suelos, aguas superficiales y subterráneas e incluso el aire (Matus y Beck 1991, citado por Zapata *et al.*, 1996).

Como resultado de la importación y del uso extensivo de plaguicidas COPs en los cultivos de exportación desde los años cincuenta hasta inicios de 1990s, muchos de las regiones agrícolas de Nicaragua, cuerpos de agua interiores y estuarios y ecosistemas costeros que recibían escurrimientos de plaguicidas están en diferente medida

contaminados por COPs; en particular el toxafeno, usado durante muchos años en la producción de algodón, y el DDT están entre la mezcla tóxica de plaguicidas COPs que contaminan, entre otros, los dos lagos mayores de Nicaragua (Managua y Nicaragua). Además de estos sitios, existe poca información en Nicaragua sobre los sitios contaminados, sus efectos en el ambiente y las personas y los costos asociados, relacionados con su remediación, por lo que aun hay que definir metodologías para remediar suelos, aguas superficiales y subterráneas que han sido impactadas por este tipo de contaminantes (Global Environment Facility, GEF y United Nations Development Programme PNUD, s/f)

En 1995, el MAGFOR inició la regulación de plaguicidas que ahora se denominan contaminantes orgánicos persistentes (COP); según criterios propios e internacionales como la convención de Estocolmo. En el 2001, el ministerio emitió la resolución ministerial 23-2001, en la cual se prohíbe la importación, formulación y uso de los siguientes plaguicidas considerados como COP: aldrin, clordano, DDT, dieldrin, endrín, hexaclorobenceno, heptacloro, mirex y toxafeno. El toxáfeno es el único insecticida de amplio espectro, utilizado y formulado en Nicaragua, esta sustancia fue registrada por la empresa Hércules de Centroamérica, S.A (ERCASA); no se cuenta con los últimos datos de fabricación, sin embargo su síntesis y uso fue restringido desde 1985 (Palma, 2004)

Acosta, *et al.* (s/f), realizó un estudio sobre los “Efectos de la aplicación del lodo residual municipal sobre suelos y plantas”, con el objetivo de evaluar, las características fisicoquímicas de lodo residual y el efecto directo que produce la aplicación de seis tasas diferentes de este lodo sobre el suelo. Encontrando que, el lodo residual, además de actuar sobre el suelo como un fertilizante organomineral, se comporta también como un material encalador; por la gran cantidad de calcio que contiene; lo que contribuye a aumentar el pH del suelo.

En la adición de lodos residuales para aumentar el rendimiento de los cultivos los niveles de metales pesados no se ven significativamente afectados por la aplicación de éstos. En los suelos el contenido de metales es inapreciable y los niveles se mantienen por debajo de los valores límites recomendados para suelos tratados con lodos residuales (Quinteiro *et al.*, 1998).

La biorremediación permite la recuperación de suelos contaminados, mediante el empleo de microorganismos autóctonos, los cuales llevan a cabo la remediación del hidrocarburo, empleándolo como fuente de energía en procesos oxidativos y reductivos bajo ciertas condiciones especiales, destacando entre estas la importancia de la capacidad de intercambio catiónico, cuyos valores muy bajo trae como consecuencia que las partículas coloidales del suelo (principalmente arcillas) e intersticios arenosos, se encuentran saturadas por cationes aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ) y protones ( $\text{H}^+$ ), en lugar de cationes intercambiables como calcio, magnesio, sodio y potasio. Este tipo de suelo no tiene la habilidad de retener nutrientes Na, Mg y Ca ya que son susceptibles al lavado (Fernandez *et al.*, 2009).

### **1.3 Generalidades**

Entre los principales problemas de contaminación que se están afrontando a nivel mundial, resaltan la contaminación de suelos, aguas subterráneas, sedimentos, aguas superficiales y el aire, por la adición indiscriminada de productos químicos tóxicos y peligrosos. Esta situación se ha venido generando por el acelerado incremento poblacional que implica una mayor demanda en la producción industrial y agrícola. En este sentido, los productores agrícolas se ven obligados a mantener y garantizar el desarrollo de los rubros alimenticios, valiéndose de una gran variedad de sustancias químicas destinadas al manejo y control de enfermedades y plagas que atacan y ponen en riesgo las cosechas; no obstante, la falta de educación y concientización agrícola, conlleva a que estos compuestos no sean manejados adecuadamente, ya que la utilización indiscriminada tanto en cantidad como en diversidad de plaguicidas ha acarreado a la contaminación de diferentes ecosistemas.

Por otra parte, el incremento poblacional trae consigo diversas actividades diarias que aumenta el consumo de agua y por ende la necesidad de aplicar tratamiento a las aguas residuales originadas. No obstante, en el tratamiento de estas aguas, se produce un considerable volumen de lodos cuya disposición final se convierte en un desafío cada día, siendo esta otra realidad que se suma al problema de contaminación que resultan ser, a gran escala, fuentes de contaminación difusas, algunas directas, que magnifican el problema de contaminación, que involucra la afectación de suelos y progresivamente las fuentes de agua potable. Esta es una situación que actualmente enfrenta no solo Nicaragua sino también

diferentes países a nivel mundial. Dicha contaminación está ocasionando el deterioro progresivo de la calidad del ambiente resultando una amenaza ecológica y problemática para la salud.

#### **1.4 Planteamiento del Problema**

Actualmente, el impacto por plaguicidas es cada vez más grave no solo por la cantidad y diversidad utilizada, sino por la resistencia que han adquirido algunas plagas, induciendo a los agricultores a utilizar mayor cantidad de estos para conseguir un buen efecto y garantizar la producción de los cultivos, sin tomar en cuenta los efectos secundarios que origina dicha práctica, pues los plaguicidas comúnmente utilizados son en su mayoría productos de hidrocarburos “clorados” y/o “fosforados” capaces de acumularse en el organismo, dado su alta solubilidad en lípidos y su metabolismo ineficiente, lo que determina su bioacumulación y biomagnificación en los diferentes factores bióticos y abióticos, afectando grandemente a las cadenas tróficas. Cuando estos plaguicidas son vertidos afectan directamente los suelos y sus propiedades, las cuales determinan el movimiento de estos contaminantes a otros componentes ambientales, incorporándose en la cadena alimenticia, en este sentido; estudios realizados han demostrado que muchos de los compuestos de plaguicidas se han encontrado en plantas, frutos, verduras, animales, agua e incluso en el hombre, quien lo adquiere por la ingesta de alimentos y aguas contaminadas a partir de estos fitosanitarios.

En este sentido, es importante evaluar la bioestimulación como técnica de remediación para la descontaminación de suelos afectados con organoclorados producto de la actividad agrícola. Con esta técnica se busca utilizar microorganismos autóctonos del área afectada a fin de no interferir en la dinámica propia del suelo, al introducir microorganismos externos. Esta técnica resulta una alternativa viable de bajo costo, en donde los microorganismos del suelo utilizan los compuestos orgánicos como fuente de energía para su metabolismo y solo requieren ser estimulados a través de fuentes de nutrientes esenciales para aumentar el crecimiento microbiano en el suelo afectado. Para ello, se pretende incorporar los lodos que se originan en plantas de tratamiento de aguas

residuales domésticas, dando así un manejo ambiental a este material que para muchos la disposición final resulta una problemática.

De acuerdo a lo antes referido, cabe plantear las siguiente interrogante ¿Cuál es la incidencia de los biosólidos en la bioestimulación de microorganismos en suelos afectados por plaguicidas organoclorados?

## **1.5 Justificación**

Debido al aumento desmedido de la población en el mundo, productores en general han tenido que impulsar medidas para incrementar la producción agrícola en busca de solventar la demanda mundial alimenticia. En virtud de ello se generó el uso de plaguicidas de una manera continua para resolver los problemas de enfermedades, plagas y malezas que azotan a los cultivos. El gran inconveniente de esta alternativa sanitaria ha sido el uso indiscriminado de estos productos que son de composición sintética y que hoy son denominados contaminantes orgánicos persistentes (COP) poco biodegradables, de gran persistencia y cuyas propiedades de bioacumulación y biomagnificación son bien apreciables en las cadenas tróficas. Estos compuestos, pueden acumularse a través de los años en el suelo o bien, ser transportados por procesos de erosión hídrica y lixiviación hacia cuerpos de agua superficial o subterránea provocando contaminación y graves afecciones a la salud.

Esta situación se agrava cuando la producción de cultivos agrícolas bajo sistemas intensivos requiere de grandes cantidades de plaguicidas para el control fitosanitario, aunque la tendencia actual presidida por organizaciones mundiales como la EPA y la OMS está dirigida a la reducción del uso de los mismos a través de normativas que los prohíben, estos continúan siendo utilizados en forma intensiva, sobre todo en aquellos países en los cuales su sustento económico principal se basa en la agricultura, lo que genera la contaminación de grandes extensiones de suelos, motivo por el cual es necesario actuar ante dicha situación que degrada indudablemente recursos como suelos y agua, indispensable para la sostenibilidad ambiental en el desarrollo de una nación. Ante esta realidad, actualmente los avances biotecnológicos ofrecen alternativas como la biorremediación,

técnica a través de la cual se pueden utilizar microorganismos para degradar o transformar los contaminantes hasta formas menos tóxicas y mitigar así la contaminación ambiental.

La presente investigación, buscó aprovechar al máximo la potencialidad de los microorganismos en la remediación del contaminante encontrado en el suelo mediante su estimulación. Para lograr la estimulación microbiana se emplearon los biosólidos como única fuente de nutrientes, incrementando el crecimiento de estos microorganismos en el suelo y por ende la disminución del contaminante aprovechado como fuente de carbono.

Esto resulta de gran interés ante la evidente problemática que actualmente se presenta debido a la contaminación de suelos por el uso de organoclorados. En este sentido, el estudio aporta una solución a la disposición final de los lodos provenientes de plantas de tratamientos de aguas residuales domiciliarias que muchas veces terminan siendo arrojados a los cuerpos de aguas originando problemas de sedimentación por la carga de sedimentos y eutrofización por el contenido de nutrientes que estos normalmente contienen.

Por otra parte, esta investigación permite valorar la implementación de técnicas de recuperación donde se dé la integración de diferentes organismos y/o instituciones encargadas del tratamiento de aguas domésticas y preservación de los suelos, aguas superficiales y subterráneas, a quienes les compete buscar alternativas de solución a la problemática planteada. El fin es garantizar la recuperación o mantenimiento de la capacidad de amortiguamiento de los suelos que han sido afectados por la actividad agrícola y cuya afectación puede alterar la calidad de los acuíferos.

Así mismo, la importancia de esta investigación radica en su utilidad como documentación previa para el desarrollo de proyectos futuros orientados a la recuperación de los suelos contaminados no solo por organoclorados, sino por otros contaminantes orgánicos persistentes. La información producto de este estudio constituye un insumo para algunas localidades de Nicaragua, donde actualmente se carece de información que permita implementar protocolos de remediación para minimizar impactos negativos en los recursos naturales.

Esto además en cumplimiento con la aprobación del convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPS), con el compromiso de establecer medidas para la reducción o eliminación de estos contaminantes, entre los cuales se encuentran los organoclorados.

### **Formulación de Hipótesis**

1. La estimulación de los microorganismos autóctonos del suelo contaminado por organoclorados a partir de biosólidos, es factible para inducir la remediación de dichos suelos.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO

Los plaguicidas organoclorados (OC) se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente terrestre y acuático, como resultado de que en las últimas dos décadas han sido utilizados constantemente para combatir plagas en la industria, la agricultura, e incluso durante las campañas de salud donde son aplicados para contrarrestar enfermedades como la malaria.

#### 2.1 Plaguicidas

Una de las definiciones más completa es la propuesta por la FAO en 1986 y OMS, 1992, la cual establece que un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de organismos causantes de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera, productos de ésta o alimentos para animales (Calva y Torres, 1998).

##### 2.1.1 Clasificación de los Plaguicidas

De acuerdo a lo establecido por Calva y Torres (1998), los plaguicidas se pueden clasificar de diversas maneras:

<b>Por su naturaleza química</b>	<b>Por su mecanismo de acción:</b>	<b>Por el tipo de organismos que afectan:</b>
Inorgánicos	Contacto	Insecticidas
Orgánicos	Ingestión	Acaricidas
Naturales (botánicos y microbianos)	Fumigante	Fungicidas
Sintéticos		Herbicidas



En la categoría de plaguicidas orgánicos sintéticos están incluidos los *organoclorados* conocidos como OC, los cuales se clasifican por su estructura química en:

- Derivados halogenados de hidrocarburos alicíclicos (HCH, lindano).
- Derivados halogenados de hidrocarburos aromáticos (DDT, p,p'DDT, p,p'DDE).
- Derivados halogenados de hidrocarburos ciclodiénicos (aldrín, dieldrín).

**Los organoclorados**, conforman un grupo de plaguicidas artificiales desarrollados principalmente para controlar las poblaciones de insectos plaga. Su origen se remonta a la fabricación del DDT (diclorodifeniltricloroetano) en 1943. Desde entonces, estos fueron un arma importante para el control de plagas, su acción, como casi todos los insecticidas, es a nivel del sistema nervioso, generando alteraciones de la transmisión del impulso nervioso. Es importante resaltar que, los organoclorados son, en esencia, hidrocarburos con alto contenido de átomos de cloro y fueron los insecticidas más criticados por los grupos ecologistas debido al alto grado de toxicidad (Según Tricárico, s/f).

### **2.1.2 Transformación de los plaguicidas en el suelo y subsuelo**

Una vez que los plaguicidas son distribuidos por la superficie del suelo, la remediación de los plaguicidas depende de varios procesos bióticos y abióticos, tales como la hidrólisis, la fotodegradación y la transformación por las raíces de las plantas y los microorganismos del suelo. En este sentido, en algunos casos la molécula puede ser degradada formándose así otros productos intermedios de mayor o menor toxicidad y finalmente estos pueden adsorberse al suelo y de esta forma acumularse por períodos más largos de tiempo o alcanzar sistemas más sensibles como el subsuelo o el agua subterránea. Sin embargo, la remediación puede presentar resistencia a los agentes biológicos, la cual suele ocurrir con los organoclorados que mantienen su actividad por largo tiempo, o puede ser incompleta y sus metabolitos persistir en el ambiente (Fournier *et al.*, citado en Copaja, 2007).

Los plaguicidas pueden cambiar las propiedades químicas del suelo ya que estos se acumulan y pueden causar diversas alteraciones. La descomposición de plaguicidas que contienen átomos de nitrógeno, cloro, bromo y azufre puede conducir, directa o

indirectamente a la formación de ácidos, que reaccionen con algunos minerales del suelo para formar sales. Por otro lado las características físicas, químicas y biológicas en la zona no saturada, donde las fuerzas capilares impulsan movimientos ascendentes del agua, determinan la contaminación potencial de los acuíferos. Los plaguicidas y otros contaminantes en el suelo, están controlados por diferentes procesos de sorción, la difusión, la penetración y la lixiviación. Estas sustancias contaminantes en el suelo se transfieren a la atmósfera por fenómenos de evaporación, al agua subterránea por infiltración de los lixiviados, al agua superficial por escorrentía y a las plantas por incorporación a través de las raíces o por absorción (Rozas, 1995, citado por Copaja, 2007).

### **2.1.3 Lixiviación de plaguicidas a los acuíferos**

De acuerdo con lo establecido por Copaja (2007), el lixiviado hacia el acuífero es un fenómeno complejo en el que intervienen numerosos procesos que ocurren en la zona no saturada. La solubilidad en el agua es el primer factor a considerar en el proceso de lixiviado de los plaguicidas. Los compuestos organoclorados son poco solubles en agua debido a su carácter polar. Sin embargo esta es una característica que está definida por la especiación y metabolitos de estos compuestos, quienes los hacen persistentes.

### **2.1.4 Factores que afectan el movimiento de los plaguicidas**

Otros factores que afectan al transporte de los plaguicidas son las condiciones climatológicas y ambientales. El grado e intensidad en que un plaguicida puede infiltrarse a través del suelo hacia las aguas subterráneas, depende en gran parte de factores climáticos externos, como lo son la temperatura ambiente, el régimen de lluvias y el régimen de vientos. Las elevadas temperaturas provocan una mayor tasa de volatilización de las sustancias. A elevadas temperaturas la actividad bacteriana se incrementa aumentando con ello la inactivación de los plaguicidas.

### **2.1.5 Características del suelo que influyen en los diferentes procesos de la dinámica de los plaguicidas**

Algunas de las características más importantes que influyen en estos procesos son; el pH, la capacidad de intercambio catiónico (CIC), textura, humedad entre otros. Desde una perspectiva físico-química, el suelo posee un sistema disperso de tres fases: líquida, sólida y gaseosa. Desde el punto de vista de la adsorción, la fase sólida es la de mayor importancia, y dentro de esta las fracciones coloidales mineral (arcilla) y orgánica. Los componentes coloidales (partículas inferiores a 2  $\mu\text{m}$ ) por su elevada superficie específica y reactividad superficial, son los principales responsables de las interacciones entre la fase sólida del suelo y los plaguicidas. Los coloides minerales más importantes referidos a la adsorción son los óxidos e hidróxidos cristalinos y amorfos y los minerales de arcilla. La arcilla sufre expansión al hidratarse, apareciendo a veces una superficie interna entre la lamina expansionada, en donde las moléculas de plaguicida se pueden adsorber. Según estudios realizados por Cornejo, 2001, citado por Copaja, 2007).

La capacidad del plaguicida para adsorberse depende de su naturaleza y de las características de la superficie con la que interacciona. El aumento de la humedad del suelo, implica en la mayoría de los casos un aumento de la sustancia disuelta y por ende mayor desplazamiento de ellas hacia los estratos más profundos del suelo. La constante de adsorción varía con el pH, siendo baja cuando el pH es muy alto o muy bajo, con lo que aumenta la liberación del plaguicida en el suelo. Por su parte la adsorción de los plaguicidas a las superficies del suelo corresponde a una reacción exotérmica la cual es invertida agregando calor (energía) al suelo (Copaja, 2007).

### **2.1.6 Efectos de los organoclorados en los organismos**

Los contaminantes orgánicos como los OC en el ambiente marino y estuario, pueden afectar el desarrollo de los organismos e inclusive la salud humana, sobre todo a través del consumo directo de especies como el camarón, mejillón, langostino, jaiba y peces. Debido a que los OC son compuestos orgánicos hidrofóbicos, tienden a acumularse en el tejido adiposo de los organismos. Como todos los organismos contienen lípidos,

captan fácilmente plaguicidas lipofílicos del suelo y del agua contaminada (Calva y Torres, 1998).

En virtud a esto y debido a la ausencia de normativas que regulen o controlen las concentraciones máximas permisibles de plaguicidas organoclorados en suelos, a excepción de Panamá y Venezuela a nivel de América Latina, se hace referencia a las normas para el control de la recuperación de materiales peligrosos y el manejo de los desechos peligrosos de la República Bolivariana de Venezuela (Decreto 2635); donde se establece las concentraciones máximas permisibles de este tipo de lixiviados en suelo.

#### **2.1.6.1 Concentraciones máximas permisibles de lixiviados en suelo (Decreto 2635 de la República Bolivariana de Venezuela)**

<b>Constituyente</b>	<b>Concentración máxima permitida (mg/l)</b>	<b>Constituyente</b>	<b>Concentración máxima permitida (mg/l)</b>
Lindano	0.4	Endrin	0.02
Heptacloro (y su epoxido)	0.008	2,4,5-triclorofenol	400.0
Toxafeno (canfe-noclorado tecnico)	0.5	2,4,6-triclorofenol	2.0
Hexacloroetano	3.0	1,1,2,2-tetracloroetano	1.3
Clordano	0.03		

## **2.2 Características generales del toxafeno**

El toxafeno, también conocido como canfecloro, clorocanfeno, policlorocanfeno y canfeno clorado, es un insecticida que contiene cerca de 670 sustancias químicas. El toxafeno se encuentra por lo general en estado sólido o en forma de gas. En su forma original, es un sólido ceroso, de color amarillo ámbar, con olor a trementina. El toxafeno no arde y se evapora cuando está en su forma sólida o cuando se mezcla con líquidos.

El toxafeno entra al medio ambiente después de que se aplica a un cultivo o cuando se vierte en un lago. Puede entrar al aire (por la evaporación), al suelo (adhiriéndose a las partículas del suelo) y al agua (por las escorrentías después de las lluvias). El toxafeno también puede ingresar al ambiente proveniente de sitios de desechos peligrosos o si

accidentalmente se derrama o se fuga durante su transporte o almacenamiento. No se disuelve bien en el agua, por lo que es más probable que se encuentre en el aire, el suelo o en los sedimentos del fondo de los lagos y arroyos. Si se encuentra toxafeno en el agua de superficie o subterránea, por lo general es a niveles muy bajos. Una vez en el ambiente, el toxafeno puede permanecer ahí por años debido a que su descomposición es muy lenta. Debido a que se descompone en forma lenta, es probable que haya exposición al material original del toxafeno. El toxafeno puede encontrarse en concentraciones grandes en algunos peces depredadores y en mamíferos, debido a que esta sustancia química se acumula en los tejidos grasos (Agency for Toxic substances & disease registry, ATSDR 1996).

### 2.2.1 Propiedades físico-químicas.

- ✓ **Nombre común** Toxafeno (CA).
- ✓ **Otros nombres/sinónimos:** Canfecloro (ISO); canfeno clorado; canfecloro; kanfocloro; octaclorofeno; octaclorocanfeno; canfenos policlorados; policlorocanfeno.
- ✓ **Categoría de uso:** Plaguicida, de tipo insecticida no sistémico de contacto y estómago con ciertos efectos en los acaricidas. Frecuentemente se ha utilizado combinado con otros plaguicidas. Se ha usado como insecticida contra el cirphis unipuncta, los gusanos del algodónero, el picudo del algodónero, los áfidos del algodónero, el alabama argillacea y otros insectos.
- ✓ **Nombres comerciales:** Agricida vermicida (F); alltex; Alttox; attac 4-2; attac 4-4; attac 6; attac 6-3; attac 8; canfocloro; camphofène huileux; chem-phène; Chem-Phène M5055; Chlor Chem T-590; Clorocanfeno; Crestoxo; cristoso; critoxo 90; compuesto 3956; Estonox; Fasco-Terpene; Genifeno; Gy-Feno; Hércules 3956; hercules toxafeno; Huilex; kanfocloro; m 5055; melipax; Motox; octoclorocanfeno; Penfeno; Penacide; Phenatox; Policlorocanfeno; Strobane-T; Toxakil; toxadust; Toxafeno; Toxon 63; toxifeno; vertac toxafeno 90.
- ✓ **Tipos de formulación:** Concentrados emulsionables (CE), polvos humectables (PH); gránulos (GR), formulaciones en polvo (FP).

El toxafeno consiste en una mezcla compleja de terpenos bicíclicos policlorados, su fórmula molecular es C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>8</sub> (la coloración puede variar). Pertenece al grupo de los

hidrocarburos clorados, posee una solubilidad en agua de 3 mg/l a 250 °C, soluble en disolventes orgánicos. La presión de vapor es de 0,2-0,4 mm Hg a 250 °C, el punto de fusión 65-900 °C (PNUMA y FAO 1999).

### 2.2.2 Efectos en el ambiente

Se ha demostrado que el toxafeno en la atmósfera es acarreado a grandes distancias, se prevé que la reacción con los radicales hidroxilos degraden el toxafeno en el aire. El toxafeno liberado en las aguas superficiales se adsorbe vigorosamente al sedimento. También está sujeto a la evaporación. La hidrólisis, la fotólisis y la biorremediación no son apreciables.

El toxafeno se adhiere firmemente a los suelos y es muy resistente a la degradación. La biodegradación aumenta en condiciones de inundación o anaeróbicas. La biodegradación del toxafeno tiene lugar lentamente en el suelo en condiciones anaeróbicas. El toxafeno es un plaguicida sumamente persistente, que no se degrada en el agua superficial. En cuanto a la bioconcentración, el toxafeno es un compuesto altamente bioacumulante, que se bioacumula con facilidad en los organismos acuáticos. (USEPA, 1987; Howard, 1991, citados por PNUMA y FAO, 1999).

### 2.3 Técnica de biorremediación

De acuerdo con lo reportado por Sánchez y Rodríguez (s/f), la biorremediación se considera como una tecnología que utiliza el potencial metabólico de los microorganismos naturales (bacterias, hongos y levaduras) para transformar contaminantes orgánicos en compuestos inocuos o menos nocivos, por lo que se puede utilizar para limpiar terrenos o aguas contaminadas. En este sentido, la biorremediación se puede practicar mediante:

- **Atenuación natural:** se denomina biorremediación intrínseca o atenuación natural, a la que la degradación de muchos compuestos orgánicos es llevada a cabo por los microorganismos autóctonos, principalmente bacterias, del medio afectado (Rosenberg y Ron, 1996; citado por Sánchez y Rodríguez, s/f). Esta técnica no necesita la incorporación de elementos que modifiquen las condiciones naturales del medio afectado. La atenuación natural es un proceso que llevan a cabo los suelos

dentro de la misma dinámica de autodepuración, sin embargo ante niveles excesivos de contaminante la atenuación natural no es suficiente para descontaminar.

- **Bioestimulación:** según Sánchez y Rodríguez (s/f), la bioestimulación consiste en la modificación en el medio afectado, mediante el aporte de nutrientes, aireación y otros procesos. En ocasiones será suficiente añadir oxígeno mediante aireación, aunque en otros se podría requerir la adición de nutrientes o ajustes de pH. En todo caso, estas aproximaciones son válidas siempre y cuando los microorganismos autóctonos sean capaces de degradar el contaminante tras un proceso más o menos largo de aclimatación previa.
- **Bioaumentación:** consiste en la incorporación de microorganismos aclimatados o incluso modificados genéticamente en el medio, con el fin de mejorar la biodegradación (Atlas y Unterman, 1999; citado por Sánchez y Rodríguez, s/f). Lo cual según Alexander 1999 (citado en Sánchez y Rodríguez), esta resulta ser una técnica que funciona en condiciones de laboratorio o biorreactor, pero en ambientes externos como suelo o agua, su implantación depende de una serie de factores entre los que se puede nombrar los microorganismos añadidos que deben sobrevivir a los depredadores y competir con éxito con la población autóctona.

### 2.3.1 Presencia de microorganismos en el suelo

Los microorganismos pueden degradar hidrocarburos y otras sustancias contaminantes derivadas, gracias al tratamiento biológico, el cual implica una compleja interacción de especies microbianas. En la mezcla de poblaciones los consumidores primarios inician el proceso de remediación y los consumidores secundarios utilizan los productos metabólicos de los primeros para degradarlos. Para el caso del tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos se requiere una concentración mínima de microorganismos heterótrofos totales de  $10^5$  a  $10^6$  UFC/g de suelo. En estos casos generalmente no se necesita inoculación. Si esta masa crítica no es suficiente se pueden incorporar microorganismos al suelo mediante inoculación o a través el proceso conocido como bioaumentación. También se puede lograr un incremento importante estimulando la población microbiana existente por incorporación de nutrientes (La Grega *et al.*, 1996; citado por Ercoli *et al.*, 2001).

La biodegradación de los hidrocarburos se lleva a cabo principalmente por dos grupos de microorganismos: las bacterias y los hongos. Las bacterias tienen un crecimiento muy rápido y una mayor capacidad de adaptación a los medios contaminados (Rojas, 2008).

Debido a que la biorremediación resulta una técnica de tratamiento de bajo costo disponible para recuperar sitios contaminados, es posible utilizar materiales orgánicos que contribuyan a la recuperación de suelos, esto debido a que son potenciales fuentes de nutrientes para los organismos presentes en él, los cuales ayudan a la remoción del contaminante. Por tal motivo los biosólidos pueden ser considerados como una fuente de nutrientes fácil de obtener para ser utilizada en el proceso de biorremediación.

## **2.4 Lodos biológicos o biosólidos**

Los biosólidos son un producto originado después de un proceso de estabilización de lodos orgánicos provenientes del tratamiento de las aguas residuales. La estabilización se realiza para reducir su nivel de patogenicidad, su poder de fermentación y su capacidad de atracción de vectores. Gracias a este proceso, el biosólido tiene aptitud para utilización agrícola y forestal, y para la recuperación de suelos degradados. Los biosólidos también son conocidos por su naturaleza como “Lodos Biológicos” los cuales según la EPA, constituyen materiales orgánicos ricos en nutrientes, que provienen del tratamiento de las aguas cloacales domésticas que son procesadas en las plantas de tratamiento de aguas residuales (Dáguer, 2003).

Los biosólidos son principalmente materiales orgánicos producidos durante el tratamiento de aguas residuales, los cuales pueden ser utilizados en diversos usos beneficiosos. Un ejemplo de tales usos es la incorporación de biosólidos al terreno para abastecerlo de nutrientes y para renovar su materia orgánica. Esta actividad se conoce como aplicación al terreno. Los biosólidos se pueden utilizar en terrenos agrícolas, bosques, campos de pastoreo, o en terrenos alterados que necesitan recuperación (EPA, 2000).



### **2.4.1 Aplicación de biosólidos en los suelos**

Existen diversos métodos para la aplicación de biosólidos al terreno. La selección del método depende del tipo de terreno y de la consistencia de los biosólidos. Los biosólidos líquidos contienen esencialmente del 94 al 97 por ciento de agua y cantidades de sólidos relativamente bajas (del 3 al 6 por ciento). Éstos se pueden inyectar al suelo para alcanzar la profundidad deseada o pueden ser aplicados a la superficie del terreno utilizando equipos agrícolas convencionales (EPA, 2000).

La aplicación de lodos biológicos o biosólidos se considera segura y deseable en el suelo, siempre y cuando cumplan con los requisitos estipulados, siendo éste el método preferido por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos, para el procesamiento de lodos biológicos. La utilización de lodos, regulada bajo la Sección 503, permite completar el ciclo natural que tiene lugar en el medio ambiente, al devolver al suelo, el material orgánico y los nutrientes (Regulación Sección 503 de la EPA).

#### **2.4.1.1 Ventajas**

La aplicación de lodos biológicos en suelos cultivables, mejora la materia orgánica, la textura y la capacidad de conservación de la humedad en el suelo, lo que promueve el crecimiento de la raíz del cultivo. La utilización de lodos biológicos también aporta nutrientes esenciales para el desarrollo de la planta, incluyendo nitrógeno, fósforo y otros micronutrientes como níquel, zinc y cobre. Los nutrientes que se encuentran en los lodos biológicos ofrecen varias ventajas, al compararlos con los fertilizantes inorgánicos y químicos, porque dichos nutrientes, que ayudan al crecimiento de la planta son eliminados lentamente. Los nutrientes de los fertilizantes químicos no se diluyen, como los que se hallan en los lodos biológicos, y por lo tanto hay menos posibilidad que se incorporen y sean absorbidos por el suelo, haciendo que se deslicen por la superficie del mismo suelo. Otra de las ventajas de la aplicación de lodo, es que resulta una práctica de reciclaje ambientalmente sostenible, debido a que en vez de ser incinerados y eliminados, estos materiales regresan al suelo para ser usados beneficiosamente (EPA, 2000).

#### **2.4.1.2 Requerimientos**

Los lodos biológicos que se aplican al suelo deben cumplir con los límites de riesgo de contaminantes, especificados en la Sección 503 del folleto informativo de normativas de aplicación de biosólidos de la EPA. De esta manera se debe alcanzar niveles de control de los agentes patógenos y reducir la atracción de agentes transmisores, tales como: moscas, mosquitos y otros organismos que puedan portar enfermedades. La Sección 503 de la EPA, establece los estándares para la aplicación de biosólidos en un terreno a partir de un proceso de estabilización.

#### **2.4.1.3 Estándares para la aplicación y disposición de lodos de aguas residuales. Agencia de Protección Ambiental (EPA)**

En la Norma 503 de la Agencia de Protección Ambiental, “Estándares para la Aplicación y Disposición de Lodos de Aguas Residuales (40 CFR Part 503 Rule: Standards for the Use and Disposal of Sewage Sludge)”, establece que los sólidos de las aguas residuales deben ser procesados antes de ser aplicados o incorporados al terreno. Este proceso, denominado “estabilización”, ayuda a minimizar la generación de olores, destruir los agentes patógenos (organismos causantes de diversas enfermedades), y reducir las probabilidades de atracción de vectores.

Existen diversos métodos para la estabilización de los sólidos de las aguas residuales, incluyendo:

- El ajuste del pH, o la estabilización alcalina.
- La digestión.
- El compostaje.
- El secado térmico.

#### **2.4.1.4 Tipos de lodos según la EPA**

Se definen dos tipos de biosólidos con respecto a la reducción de agentes patógenos, *Clase A* y *Clase B*, dependiendo del grado de tratamiento que los sólidos hayan recibido.

Los dos tipos son adecuados para la aplicación al terreno, pero se imponen requisitos adicionales en la Clase B. Norma 503 de la EPA.

Para la Aplicación de Lodos clase B, la EPA considera precauciones en algunas actividades tales como; el acceso restringido del público al terreno de aplicación, la limitación de consumo por el ganado, y el control de los periodos de cosecha.

En el caso de los biosólidos de la Clase A (biosólidos tratados de tal manera que no contengan agentes patógenos a niveles detectables), no están sujetos a estas restricciones.

De acuerdo con la Norma EPA/625/R-92/013, 1999 (citado por Guzmán y Campos, 2004), un biosólido clase A (autorizado para todos los usos) debe presentar concentraciones de microorganismos patógenos como coliformes fecales 1000 NMP/g de peso seco, mientras que un biosólido de clase B, presenta una concentración de coliformes fecales hasta  $2 \times 10^6$  NMP o UFC/g de peso seco, el cual puede ser utilizado con ciertas restricciones de tiempo (comprendido entre su aplicación y la siembra del cultivo), lo que permite alcanzar concentraciones de microorganismos que no significan un riesgo sanitario para la salud pública.

Además de la estabilización que deben cumplir los biosólidos, la Norma 503 establece las concentraciones máximas de metales que no pueden sobrepasarse en los biosólidos que van a ser aplicados al terreno. Sin embargo, cuando se utilizan biosólidos provenientes de plantas de tratamiento de origen doméstico la presencia de estos metales resulta nula o bastante baja, pues la manera de que estos puedan estar presentes depende de factores adicionales como descargas de origen industrial. De esta manera Chicon (2003), destaca que, la presencia de metales pesados en lodos de aguas residuales domésticas se asocia a las fuentes contaminantes de pequeñas industrias establecidas en zonas urbanas o en polígonos industriales carentes de plantas de tratamiento, cuyas aguas son vertidas ilegalmente en la red de alcantarillado, considerando también aunque en muy baja proporción la contaminación procedente por la corrosión de tuberías.

## **CAPÍTULO III**

### **MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1 Diseño de la investigación**

El diseño del estudio se enmarcó en una investigación de campo de tipo experimental. Según el Manual de Trabajos de Grado de Especialización y Maestría y Tesis Doctorales de la UPEL (2002), una investigación de campo, consiste en el análisis sistemático de problemas en la realidad, con el propósito bien sea de describirlos, interpretarlos, explicar sus causas y efectos o predecir su ocurrencia, haciendo uso de métodos característicos de cualquiera de los paradigmas o enfoques de investigación. Según los objetos del estudio y posibilidades reales para coleccionar la información, la investigación de campo puede ser entre otros, de tipo: Experimental, Cuasi Experimental o ex post-facto.

#### **3.2 Universo de estudio**

Estuvo representado por 6 microcosmos de suelos contaminados con organoclorados, proveniente del Aeródromo Agrícola El Picacho del Departamento de Chinandega, municipio El Viejo, lugar de carga, descarga y prueba de bombeo de avionetas para la fumigación de cultivos a mediados de 1990, actividad que actualmente se sigue practicando en menor proporción. Los suelos muestreados, fueron dispuestos en pilas de concretos de 1 m<sup>2</sup> con una profundidad de 30 cm, ubicadas a la intemperie en las inmediaciones de la planta de tratamiento de suelos de la empresa Enviromental Protection & Control (EPC) ubicada en San Benito en el km 33.5 de la carretera Panamericana Norte, de Nicaragua, con el propósito de simular las condiciones ambientales a las que normalmente estarían sometidas las muestras de suelos para efectos del tratamiento.

### **3.3 Muestreo de suelo**

Se siguió el método de muestreo por transeptos sugerido por el comité ARCAL (Acuerdo Regional de Cooperación para la Promoción de la Ciencia y Tecnología Nucleares en América Latina) en su protocolo para Muestreo de suelos (2009), el cual consiste en el establecimiento de uno o más transeptos a través de la superficie del área de estudio según las características topográficas del terreno. Siguiendo esta metodología, para efectos del estudio, se llevó a cabo un muestreo de 5 transeptos en zigzag a los laterales de la pista del aeródromo “El Picacho” con una profundidad comprendida entre los 30-70 cm, tal como se muestra en la Anexo D. Las muestras fueron tomadas a intervalos regulares a lo largo de la pista con una distancia aproximada de 120 metros.

Posteriormente las muestras fueron vertidas en sacos de polietileno debidamente selladas y tapadas con plástico negro para su traslado hasta la planta EPC donde se mezclaron hasta homogeneizar y se procedió a conformar 6 microcosmos del suelo contaminado, extrayendo además las muestras para los laboratorios en los que se llevaron a cabo los análisis necesarios para obtener la información base del estudio.

### **3.4 Muestreo de biosólidos**

Las muestras de biosólidos fueron tomadas de la planta de tratamiento de aguas residuales domésticas del Residencial Ciudad Real en Veracruz, Managua, Nicaragua, estos como producto final del tratamiento de sus aguas residuales, dicho material fue previamente estabilizado en la planta mediante la aplicación de cal, y deshidratado mediante la acción solar. El muestreo se realizó en forma de zigzag, considerando para ello 6 puntos de muestreo en el área de extensión del material, seguidamente las muestras fueron homogeneizadas y empacadas en sacos de polietileno para su traslado y posterior aplicación en los microcosmos de suelos contaminados ya establecidos en la planta EPC. Una vez homogeneizado el material, se procedió a tomar muestras para realizar los análisis de laboratorio correspondientes.

### **3.5 Etapas de monitoreo del ensayo**

Una vez establecido el experimento se llevó a cabo un monitoreo diario de los parámetros correspondientes a humedad y temperatura, mientras que el pH fue evaluado dos días por semana, esto a manera de darle seguimiento al mantenimiento de los parámetros que debe seguir un proceso de biorremediación. Para verificar el comportamiento del tratamiento, se colectaron muestras de suelo de cada tratamiento a los 0 y 73 días de establecido el experimento, en las que se evaluó el aumento o disminución de los microorganismos como bioindicadores del proceso de biorremediación. La concentración de organoclorado también se determinó a los 0 y 73 días de tratamiento.

### **3.6 Procedimientos de análisis de laboratorio**

Para efectos de la investigación, los procedimientos consistieron en la realización de análisis de características, físicas, químicas y microbiológicas en los suelos recolectados para el estudio. Para estos análisis, se recurrió a las instalaciones de servicios privados de CIRA-UNAN, MAGFOR, UNA y UNI.

#### **3.6.1 Caracterización físico-química y microbiológica de las muestras de suelo**

Se analizaron las características físico-químicas de las muestras de suelo considerando entre estas: la humedad, pH, nitrógeno, fósforo disponible, materia orgánica, relación carbono-nitrógeno, potasio, potasio disponible, calcio, magnesio, sodio, capacidad de intercambio catiónico y clase textural. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional Agraria (UNA).

El Conteo de microorganismos mesófilos presentes en las muestras de suelo se realizó al inicio y final del ensayo, por duplicado en diferentes laboratorios con el fin de constatar resultados y garantizar la confiabilidad de los datos, describiendo según criterios de la investigación, la metodología de uno de los laboratorios seleccionados.

Para el análisis y cuantificación de hongos, bacterias y actinomicetos se recurrió a los servicios de los Laboratorios de Micología y Microbiología de la Universidad Nacional Agraria (UNA), se utilizó el método de dilución seriada de Castaño-Zapata (1986), el cual

consistió en pesar 10 g de suelo, diluirlos en 90 ml de agua destilada estéril, dejarlo en reposo por 5 min (dilución  $1:10^{-2}$ ) y de esta dilución se transfirió 1ml a un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril mezclándose bien ( $10^{-3}$ ), de manera análoga se transfirió al tercer tubo hasta completar la dilución  $10^{-6}$ . De la dilución  $10^{-4}$  se sembraron 0.2ml en medio PDA (papa, dextrosa, agar), medio general para hongos; de la dilución  $10^{-6}$  se sembraron 0.2 ml en medio AN (agar nutritivo) para bacterias y medio AA (medio general para hongos) utilizado para actinomicetos, la siembra se realizó a través de la técnica de Drigalski. Para cuantificar las poblaciones de hongos, bacterias y actinomicetos de suelo, se utilizó la metodología citada por Sergueichuck (1986) que consiste en cuantificar las unidades formadoras de colonias (UFC), para ello se utilizaron seis repeticiones por muestra de suelo en las diferentes cápsulas de petri.

Para la identificación de bacterias se utilizó criterios morfológicos (forma, tinción de Gram, movilidad y pigmentación), bioquímicos (prueba de oxidación). La identificación de los hongos se hizo mediante la clave Barnett y Hunter (1999).

### **3.6.2 Caracterización físico-química y microbiológica de biosólidos**

Se evaluaron las características físico-químicas y microbiológicas seleccionadas para el caso de los suelos, considerando además la valoración de coliformes fecales por la naturaleza del material. Los análisis físico-químicos de las muestras fueron realizadas en el Laboratorio de Suelo de la Universidad Nacional Agraria (UNA).

La determinación de coliformes fecales fue realizada al inicio y final del estudio, en el laboratorio de microbiología del CIEMA-UNI, a través de la metodología analítica 9221E, descrita en el Standard Methods for the examination of water and wastewater (2005). La realización de este análisis se efectuó, mediante la técnica de fermentación de tubos múltiples para la determinación del número más probable (NPM) de organismos coliformes. El método consistió en la determinación de la densidad de coliformes y se realizó en dos etapas: la prueba presuntiva y la prueba confirmativa, en la prueba presuntiva, la actividad metabólica de las bacterias fue estimulada vigorosamente ocurriendo una selección densa de los organismos que utilizaron la lactosa después de la incubación a  $35.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  de 24 a 48 horas. Un cultivo de cada tubo gas-positivo en la

prueba presuntiva, se transfirió a un tubo de medio EC a  $44.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$  para coli fecales, con un periodo de 24 horas de incubación en baño de maría. Luego del periodo de incubación, los tubos se agitaron suavemente y se observó la producción de gases. La presencia de gas fue considerada como prueba positiva.

El cálculo de NMP se basó en la combinación de tubos positivos y negativos; los resultados se reportan como NMP por 100 ml (NMP/100 ml).

$$NMP/100\text{ ml} = \frac{\text{Número de tubos positivos} \times 100\text{ ml}}{\sqrt{\text{ml de muestras en tubos negativos} \times \text{ml de muestra en todos los tubos}}}$$

Este análisis se realizó a los 0 y 73 días para verificar su concentración inicial en el lodo antes de ser incorporarlo al suelo y al final a manera de cuantificar la carga de organismos patógenos y dando cumplimiento a la normativa de incorporación de biosólidos en suelo que establece la EPA.

### **3.6.3 Determinación de concentración de organoclorados en las muestras de suelo**

El procesamiento de las muestras se realizó por duplicado con la finalidad de constatar resultados y garantizar la confiabilidad de los datos arrojados, en este sentido, se contó con la colaboración de los laboratorios del Ministerio de Salud (MINSA), el Centro de Investigación de Recursos Acuáticos (CIRA) y con asesoramiento técnico de una persona asociada al Instituto de Medicina Legal. Por otra parte las muestras también fueron analizadas por el laboratorio de Residuos Biológicos del Ministerio Agropecuario y Forestal (MAGFOR). Para fines descriptivos se refleja la metodología utilizada por el laboratorio del MAGFOR cuyos procedimientos se encuentran enmarcados en el manual de entrenamiento para laboratorios de plaguicidas elaborado por la EPA, USAID y FDA (1997), en este marco se procedió a realizar la extracción pesando 10 g de suelo sin secar y tamizado en un matraz erlenmeyer de 250 ml para posteriormente agregarle 7 ml de solución 0.2 M de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), dejando reposar por 15 min. Se añadió 100 ml de hexano-acetona (1+1), se tapó y se dejó durante toda la noche en agitación, para luego realizar la limpieza del extracto con una columna de florisil, esto con el fin de eliminar los coextractos que pudieran interferir en una buena resolución del análisis cromatográfico, posteriormente se realizó un enjuague del suelo con dos porciones de



hexano-acetona y se decantó a través de la columna, enjuagando de nuevo con hexano-acetona. Se agregaron 200 ml de H<sub>2</sub>O al separador agitando vigorosamente por 30 segundos para luego drenar la fase acuosa en un segundo separador extrayendo con 50 ml de hexano. Se combinaron las capas de hexano en el primer separador y se lavó con 100 ml de H<sub>2</sub>O. El H<sub>2</sub>O fue drenada y desechada y el hexano se pasó a través de la columna con 2cm de sulfato de sodio anhidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrando a 100 ml. Posterior a esto se realizó la inyección de 5 a 10 µl en el cromatógrafo de gases marca Agilent modelo 7890A, con columna capilar BD 1701, 30m x 0.32mm x 0.25µm y detector µEC, de esta manera se obtuvieron los resultados.

En virtud al costo de los análisis de laboratorios, se realizó un primer análisis a los 0 días, tomándose una muestra representativa de cada muestra de suelo mezclándose hasta obtener una única muestra compuesta. Para el segundo análisis al final del ensayo (73 días después), se tomaron muestras de suelo de cada tratamiento para un total de 6 muestras, obteniéndose las concentraciones al inicio y al final del tratamiento.

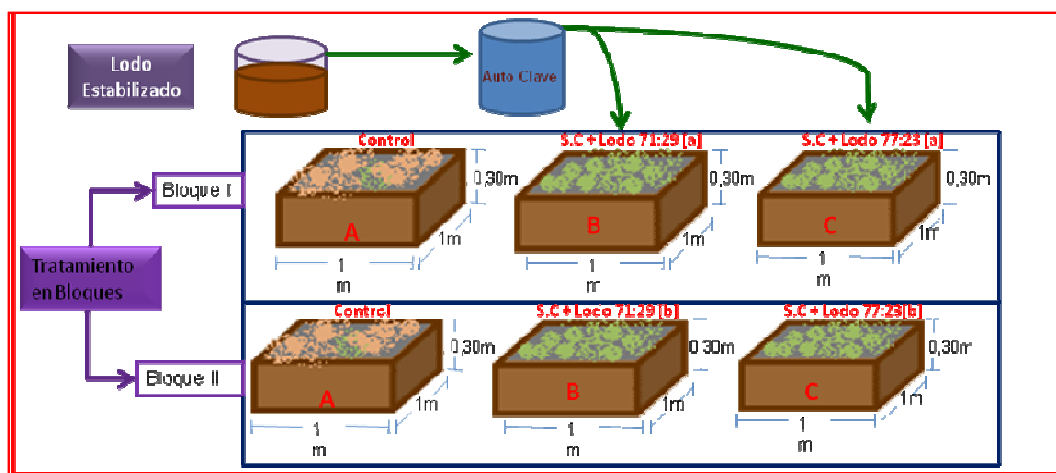
### **3.7 Diseño y unidad experimental**

Se aplicó un diseño experimental en bloques completamente aleatorizados, debido a que se pretendió la conformación de bloques completos en los que se mostraron todos los tratamientos, distribuidos aleatoriamente dentro de cada bloque. Tal como menciona Di Rienzo *et al.*, (2005) que, el arreglo experimental en donde se agrupan aquellas unidades similares en bloques y se les asigna aleatoriamente los tratamientos dentro de esos bloques, se les denomina diseño en bloques completos aleatorizados.

Se aplicó el proceso de biorremediación, para ello se dispuso de un ensayo conformado por 6 parcelas o unidades experimentales distribuidas en 2 bloques, sobre los cuales se realizaron los tratamientos. Cada bloque contó con una unidad cuyo factor determinante fue la ausencia o presencia del biosólido en diferentes cantidades. Quedando conformado por; Bloques IA y II A: con 125 kg de suelo contaminado sin biosólidos (controles), para las unidades de los bloques IB y II B se incorporó 125 kg de suelo contaminado representando el 71.4 % y 50 kg de biosólidos correspondiente al 28.5 % de la

totalidad de la mezcla, estableciendo una relación porcentual de 71:29. Por su parte, en los tratamientos IC y II C, la relación porcentual establecida fue de 77:23 siendo 125 kg (77.16 %) de suelo contaminado y 37 kg (22.83 %) de biosólido respectivamente.

Por otra parte, al biosólido le fue aplicado un tratamiento térmico en el que se sometió a una temperatura de 221°C durante 45 minutos en autoclave, esto con el fin de disminuir la carga de patógenos determinada con los análisis realizados de coliformes fecales.



### 3.8 Formulación de Variables

Las variables representan la propiedad que puede fluctuar o influir en variaciones susceptibles de medirse en el estudio, adquiriendo valor para la investigación al relacionarse con otras variables.

Variable Independiente (Tratamiento, Estímulo)	Influye en...	Variable Dependiente (Efectos)
Incorporación de Biosólidos	Acelerar	Metabolismo de microorganismos-Crecimiento Microbiano
Estimulación de Microorganismos	Reducir	Concentración de organoclorados

#### **4.9 Análisis de Datos**

El análisis de datos se realizó a través de las herramientas del programa Excel 2007, para la presentación del comportamiento poblacional de microorganismos y concentración del contaminante mediante la expresión de cuadros y gráficos.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y ANÁLISIS

Se realizó un estudio preliminar el cual consistió en diferentes tratamientos que permitieron evaluar la eficiencia del biosólido como fuente de nutrientes para la estimulación de microorganismos degradadores de organoclorados. Se realizó la corrida completa para la identificación de los organoclorados presentes en las muestras de suelos, encontrándose solamente concentraciones de toxafeno de hasta 343 ppm.

De acuerdo con el triángulo textural, el suelo usado en este estudio es franco (ver cuadro 1, Anexos A), lo cual es un indicativo de que el proceso de biorremediación es viable, según las normas venezolanas para el control de la recuperación de materiales peligrosos y el manejo de los desechos peligrosos (1998), establecen que para la práctica de la técnica de biotratamiento sobre el suelo arable, el área de disposición final debe estar conformada por suelos de textura franca, franco arenoso, franco limosa o franco arcillosa, o ser acondicionado artificialmente.

Aunque el suelo de estudio, no provenía de un campo agrícola, el contaminante encontrado es usado para este tipo de prácticas por lo que coincide con la normativa existente para un suelo con potencial de obtener resultados favorables en la aplicación de tratamientos. Otra de las variables importantes es la capacidad de intercambio catiónico (CIC), siendo este valor bajo en el suelo de estudio, esto se debe a la naturaleza misma del suelo, lo que se relaciona con la clase textural (suelo franco) y a su bajo contenido de materia orgánica. (Ver cuadro 1). Dicha condición fue mejorada al incorporar el biosólido con una CIC mayor de 40 meq/100 g suelo, valor calificado como muy alto (Quintana *et al.*, 1983, ver anexo A), mejorando de esta manera las propiedades del suelo a remediar, ya que la CIC controla la disponibilidad de nutrientes y determina el papel del suelo como depurador natural al permitir la retención de elementos contaminantes presentes en el mismo (Fernández *et al.*, 2009).

**Cuadro 1: Resultados análisis físico-químicos del lodo y suelo**

	pH	MO %	N %	P ppm	K-d	K	Ca	Mg	Na	CIC	Tex
					me/100 g suelo						
<b>Lodo</b>	6.49	9.1	0.45	267	1.92	4.39	30.22	11.36	6.46	56.96	Arc. A.
<b>Suelo</b>	5.64	2.32	0.11	25.6	0.66	0.77	10.02	1.55	0.40	14,99	Fr.

pH= acidez o alcalinidad; MO= materia orgánica; N= nitrógeno; P= Fosforo disponible; K-d= potasio disponible; K= potasio; Ca= calcio; Mg; magnesio; CIC; capacidad de intercambio catiónico; Tex= Textura; Arc.A= Arcillo arenoso; Fr= Franco.

Se evaluó pH del suelo encontrando que se trata de suelos medianamente ácidos, de acuerdo con lo reportado por Fernández *et al.* (2009). Sin embargo, el pH se mantuvo entre los niveles requeridos para el tratamiento, según lo establecido por Álvarez y Guevara (2003) quienes destacan que, los niveles óptimos para la biorremediación de hidrocarburos se encuentran entre 5.5 a 8.5, siendo el del suelo en estudio de 5.64, al cual se agregó el biosólido con un pH de 6.49 (Ver cuadro 1, Anexo A). Una vez establecido los tratamientos, el pH logró alcanzar un promedio de 6.68, pues el pH del suelo está influenciado por muchos factores entre estos, material parental, materia orgánica y nutrientes que puedan ser añadidos (Portland Estate University, 2010), este valor de pH hace a la mezcla suelo-biosólido aun más propicia para el proceso de biorremediación, ya que este parámetro afecta significativamente la actividad microbiana y por ende la remediación (ver cuadro 2). Lo que coincide con lo reportado por Acosta *et.al.*, (s/f), quien plantea que el lodo residual, además de actuar sobre el suelo como un fertilizante organomineral, se comporta también como un material encalador; por la gran cantidad de calcio que contiene; lo que contribuye a aumentar el pH del suelo y garantiza la fijación del nitrógeno y fosforo los cuales se presentan en cantidades suficientes para activar el crecimiento de consorcios microbianos.

**Cuadro 2: Monitoreo analítico del tratamiento de biorremediación aplicado**

Análisis	Resultado promedio	Tiempo/Días
<b>pH</b>	6.68	0-73
<b>Humedad</b>	22.5	0-73
<b>Temperatura</b>	29.5 °C	0-73

De acuerdo a los resultados emitidos por el Laboratorio de Residuos Biológicos del MAGFOR (Cuadro 3), las muestras de suelo utilizadas para este ensayo presentaron concentraciones de 343 ppm de toxáfeno (343mg/l o mg/kg) lo que supera los límite permisible de lixiviados en suelos según lo establecido en el decreto 2.635 de las normas para el control de la recuperación de materiales peligrosos y manejo de los desechos peligrosos en la República Bolivariana de Venezuela, quienes establecen como concentración máxima permitida valores igual o menor a 0.5mg/l.

**Cuadro 3: Concentración de organoclorados (toxafeno) en suelo**

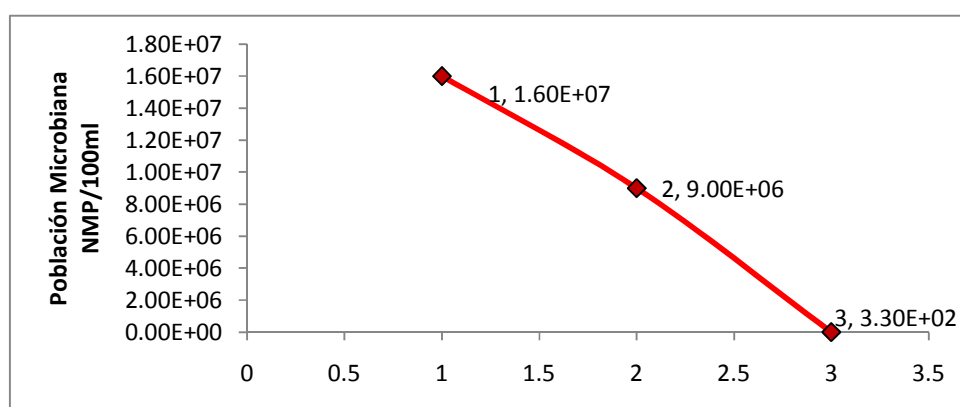
<b>Tratamientos</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
	<b>valor promedio</b>	<b>valor promedio</b>	<b>valor promedio</b>
<b>Concentración inicial (ppm)</b>	343	343	343
<b>Concentración final (ppm)</b>	253	39.7	87.7
<b>Según factor de dilución</b>	—	55.6 F= 1.4	113.2 F= 1.29

A= Controles; B= Tratamiento relación 71:29; C= Tratamiento relación 77:23; F= factor de dilución aplicado.

La incorporación del biosólido permitió la adición de elementos esenciales como nitrógeno y fosforo, coincidiendo esto con lo reportado por Álvarez (2007), en su estudio de biorremediación aplicado a hidrocarburos, por lo que, los biosólidos representan un fertilizante natural con grandes ventajas ante fertilizantes químicos. Además, de acuerdo con lo planteado por la EPA estos aportan nutrientes indispensables para el desarrollo de las plantas, incluyendo nitrógeno, fósforo y otros micronutrientes de interés para llevar a cabo procesos de biorremediación.

Los valores de coliformes en el biosólido obtenidos inicialmente fueron de  $10 \times 10^7$  NMP, por consiguiente este fue sometido a tratamiento térmico en una autoclave logrando obtener colonias de  $10 \times 10^6$  NMP, ajustándose a lo requerido por la EPA para biosólidos de lodos clase B que según la normativa, pueden ser empleados como fertilizantes o mejoradores de suelos, entre otros, debido a las restricciones en su aplicación con el fin de evitar el contacto público con los lodos.

Al finalizar el ensayo se evaluó el material resultante obteniendo según los rangos de la EPA un lodo de clase A, el cual puede aplicarse sin restricción alguna, como lo reporta Guzmán y Campos (2004), quienes plantean en su estudio que los biosólidos de tipo B pueden ser aplicados con ciertas restricciones de tiempo (comprendido entre su aplicación y la siembra del cultivo), lo que permite alcanzar poblaciones de microorganismos que no representen riesgo sanitario (biosólidos de clase A). (Gráfico 1, Anexos B).



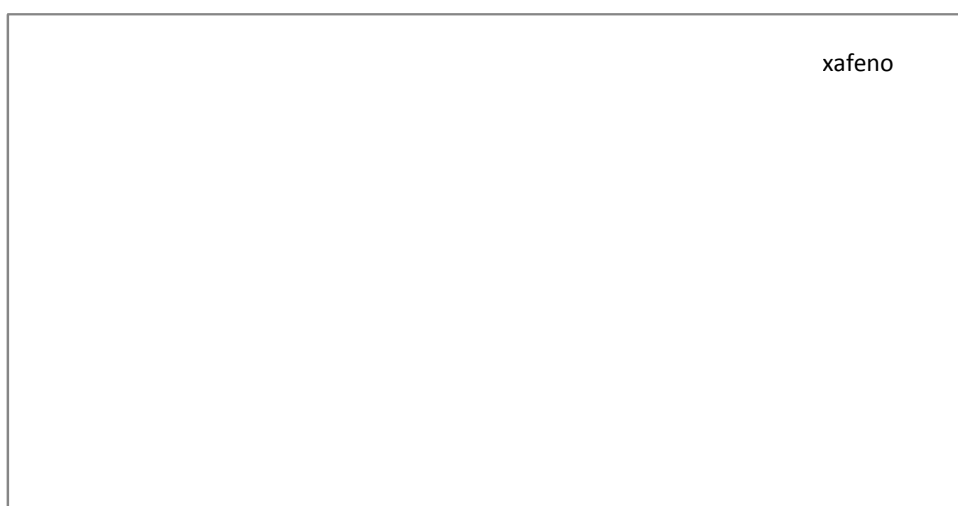
**Gráfico 1: Coliformes fecales al inicio y final del ensayo de biorremediación.**

1= biosólido crudo al inicio del ensayo; 2= biosólido autoclavado inicial; 3= mezcla suelo/biosólido al final del ensayo.

Para efectos de este estudio no se consideró la determinación del contenido de metales pesados, por tratarse de biosólidos procedentes de un residencial en el que se estima no existen descargas de aguas industriales con alto contenido de metales, que puedan representar un riesgo en la aplicación del material. De acuerdo con lo planteado por Chicón (2003), la procedencia de los metales pesados encontrados en las aguas residuales es asociada a las fuentes de contaminación de pequeñas industrias establecidas en zonas urbanas o en polígonos industriales carentes de plantas de tratamiento, quienes vierten ilegalmente sus aguas a la planta, no obstante esta situación no se aplica a la planta de este residencial del cual se extrajo el biosólido utilizado para este tratamiento.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la concentración de organoclorados indican que el valor inicial de toxafeno fue de 343 ppm en las muestras de suelo, obteniéndose al final del ensayo concentraciones promedio de 39.7 y 87.8 ppm según resultados oficiales emitidos por el laboratorio de residuos biológicos del MAGFOR. No obstante, tomando en consideración el factor de dilución aplicado para llevar a cabo los tratamientos, se reflejan

valores promedios de 55.6 y 113.2 ppm para los tratamientos designados como B y C respectivamente (Cuadro 3, Anexos C); lo que evidencia que la biorremediación fue satisfactoria en ambos bloques. En cuanto a los porcentajes de biorremediación, se tiene que estos mostraron promedios de 84% y 69% en los tratamientos B y C, mientras que el control mostró un promedio de 26% de biorremediación, por su parte; si se considera este valor “ruido” se tiene que los porcentaje de biorremediación para estos tratamientos se corresponden con 58% y 43%, mostrando siempre valores de remediación más elevados para los tratamientos B cuya relación suelo:biosólido fue de 71:29 (Ver Gráfico 2). Dichos resultados permiten confirmar la aplicabilidad de este tratamiento, debido a que los valores obtenidos sobrepasan el 20% de ruido considerado por la EPA para determinar la aplicabilidad de tratamientos ambientales.



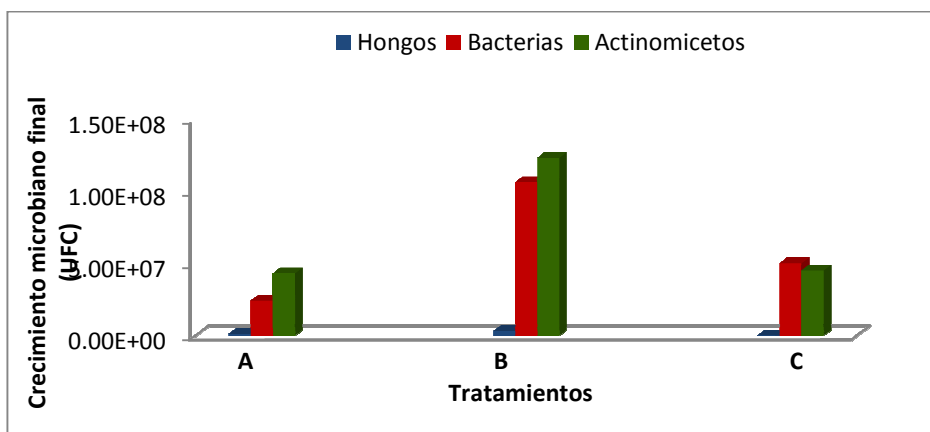
**Gráfico 2: Porcentaje de biorremediación de organoclorados (Toxafeno).**  
A= Controles; B= Tratamiento relación 71:29; C= Tratamiento relación 77:23.

Por otra parte, se evidenció que además de los nutrientes incorporados con el biosólido en los tratamiento, los microorganismos de éste también tomaron parte en el proceso de remediación, tal como afirman Álvarez y Guevara (2003), argumentando que la cooperación entre diferentes especies microbianas mejora la remediación, por ser la biorremediación el resultado de una intrincada red de consorcios y actividades microbianas y la probabilidad de una remediación exitosa se incrementa con la biodiversidad en el tratamiento. En este sentido los autores acotan la importancia del papel que cumplen la



diversidad de especies en la remediación gradual de contaminantes orgánicos complejos, a través de relaciones interespecíficas como el comensalismo o cometabolismo asociado.

En virtud a lo planteado anteriormente, se destaca que la presencia microbiana es esencial en el proceso de biorremediación, esto se pudo demostrar en los resultados obtenidos en los directos tratamientos, debido a que aquellos cuyo porcentaje de biorremediación fue más elevado, presentaron mayor crecimiento poblacional de colonias particulares de microorganismos. En el gráfico 3 se muestra el comportamiento poblacional en los diferentes tratamientos.



**Gráfico 3: Población microbiana en los tratamientos.**

A= Controles; B= Tratamiento relación 71:29; C= Tratamiento relación 77:23.

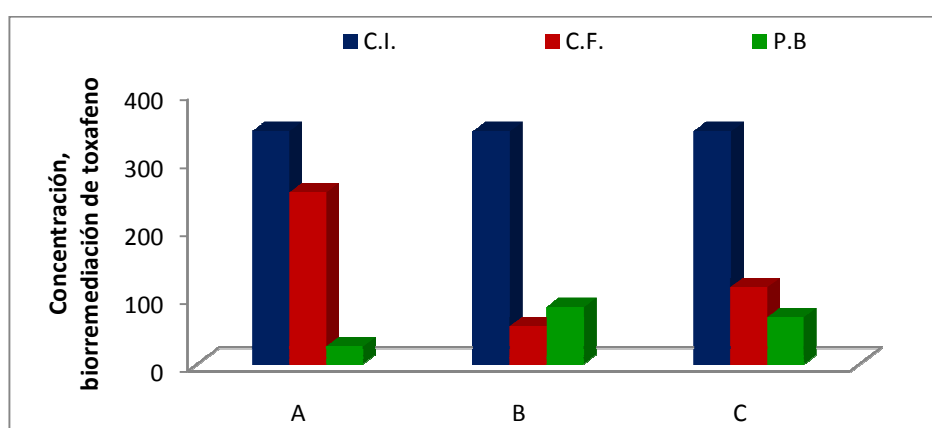
Se puede evidenciar mayor crecimiento microbiano en el tratamiento B mostrando relevancia el grupo perteneciente a bacterias y actinomicetos, no obstante los hongos muestran un comportamiento similar, a diferencia del tratamiento C, en el cual el crecimiento poblacional es menor, mostrando siempre predominancia el grupo bacteriano. Según Álvarez (2007), el incremento de la población microbiana se considera como un bioindicador de la eficacia del proceso de biorremediación, desde esta perspectiva y considerando los resultados obtenidos en este estudio, se reafirma la relación directamente proporcional existente entre la biorremediación del contaminante toxafeno y el crecimiento en las poblaciones de microorganismos presentes en el suelo.

Se logró mayor biorremediación en los tratamientos B que a su vez presentan mayor crecimiento microbiano, de igual forma se evidencia una reducción en la concentración de

toxafeno en el caso de los tratamientos C con respecto a los resultados obtenidos para el grupo control designado con la letra A y al que no se le incorporó biosólido. Dichos resultados muestran la efectividad de la incorporación de biosólidos para el tratamiento de suelos afectados con organoclorados o cualquier otro hidrocarburo cuya composición contenga esta compleja estructura. La adición de biosólido garantiza el aporte no solo de nutrientes esenciales que sirven para estimular y acelerar el metabolismo de los microorganismos e inducirlos a hacer uso de las moléculas orgánicas del toxafeno como única fuente de carbono y energía, sino también microorganismos que ayudan al proceso de remediación.

El volumen de biosólido utilizado para cada tratamiento, incidió significativamente en los resultados de biorremediación obtenidos, registrando mayor efectividad para el caso de las proporciones de 71:29, donde los tratamientos B mostraron mayor remediación y población microbiana con respecto a los tratamientos C, cuyas proporciones fueron 77:23 (ver gráfico 2, Anexos C).

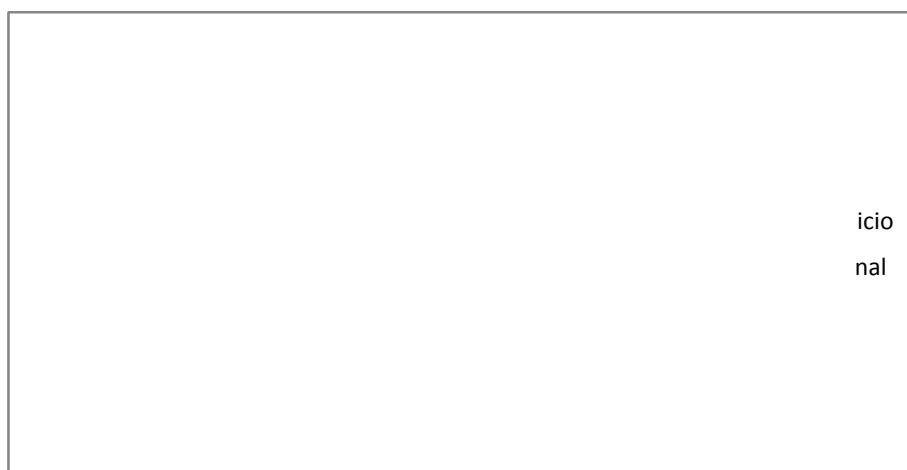
Los resultados obtenidos en la biorremediación del toxafeno, permiten confirmar la hipótesis planteada al inicio del tratamiento aplicado, en la que la incorporación del biosólido en los tratamientos B y C mostró una marcada diferencia entre las concentraciones de toxafeno obtenido al final del ensayo con respecto al control A (Gráfico4).



**Gráfico 4: Concentración y biorremediación de toxafeno.**

A= Controles; B= Tratamiento relación 71:29; C= Tratamiento relación 77:23; C.I= Concentración inicial de toxáfeno; C.F= Concentración final de toxáfeno; P.B= Porcentaje de biorremediación.

Los microorganismos alcanzaron densidades poblacionales durante los dos meses y medio del ensayo con diferentes tendencias (Gráfico 5). Las densidades poblacionales iniciales para las bacterias fue de  $2.10 \times 10^8$  UFC y al final en promedio de  $1.80 \times 10^8$  UFC mostrando un leve descenso, mientras que los hongos y actinomicetos mostraron un aumento significativo de  $8.0 \times 10^3$  a  $4.40 \times 10^6$  y  $8.00 \times 10^7$  a  $2.11 \times 10^8$ , respectivamente.



**Gráfico 5: Crecimiento microbiano en el suelo al inicio y final del ensayo (0-73 días)**

La disminución leve de la población bacteriana, hongos y actinomicetos en los suelos, se puede atribuir al proceso de adaptación natural de estos ante el traslado de las muestras desde las inmediaciones del Picacho hasta el lugar de asentamiento del ensayo. Esto se demuestra en los análisis microbiológicos realizados al suelo donde el descenso de bacterias y algunos hongos fue evidente. (Grafico 5, Anexo B). Esto debido al incremento metabólico inducido al incorporar los nutrientes esenciales contenidos en el biosólido utilizado, lograron degradar gran parte del contaminante; lo que demuestra la viabilidad de la utilización de este tipo de material como fertilizante orgánico para remediar suelos afectados con toxafeno.

Se observó predominancia del grupo de bacterias y actinomicetos en el proceso, a excepción del tratamiento IB en el que los hongos tuvieron influencia en el porcentaje de remediación obtenido, mostrando mayor crecimiento en éste tratamiento en relación a los restantes, en cuyo crecimiento fue escaso. Esto concuerda con lo reportado por Rojas (2008), quien señala que, la biorremediación de los hidrocarburos se lleva a cabo principalmente por dos grupos de microorganismos: las bacterias y los hongos.

Por otra parte, partiendo de la premisa de la relación establecida entre crecimiento microbiano/porcentaje de remediación, se puede inferir que las bacterias y actinomicetos participaron activamente en este proceso, aunque las bacterias mostraron una reducción poblacional con respecto a la muestra inicial, se mantuvieron a lo largo del ensayo con una proporción considerable para llevar a cabo la biorremediación. Autores como La Grega et al, 1996 (citado por Gálvez *et al.*, 2001), refieren que, para el caso del tratamiento de suelos contaminados con algún tipo de hidrocarburos se requiere una concentración mínima de microorganismos heterótrofos totales entre  $1.05 \times 10^2$  y  $1.06 \times 10^2$  UFC por gramo de suelo, condición que garantiza aún más los resultados al lograr obtener el doble de las poblaciones de actinomicetos que se reportan al inicio de los tratamientos, (Ver Gráfico 5).

El aislamiento microbiológico permitió la obtención de 10 tipos de colonias a partir de las muestras de suelo en tratamiento, encontrándose algunos hongos de gran importancia como lo son los *Aspergillus sp*, *Gliocladium sp*, *Paecilomyces sp*. Por su parte entre el grupo de bacterias se encontró las pertenecientes al grupo de las *Pseudomonas sp*, la *Serratia sp*, *Azotobacter sp* y *Sarcina sp*. Mientras que para los actinomicetos se reportan los pertenecientes al grupo de los *Streptomyces sp* y *Athrobacter sp*. (ver Cuadro 4 Anexo B).

<b>Cuadro 4: Caracterización microbiológica del suelo tratado (UFC)</b>			
	<b>Conteo de Hongos</b>	<b>Inicio</b>	<b>Final</b>
<b>IA</b>	<i>Aspergillus sp</i>		$1.0 \times 10^5$
	<i>Aspergillus niger</i>		
<b>IIA</b>	<i>Aspergillus sp</i>		$1.1 \times 10^6$
	<i>Paecilomyces sp</i>		
<b>IB</b>	<i>Aspergillus sp</i>	$8.0 \times 10^3$	$3.0 \times 10^6$
<b>IIB</b>	<i>Aspergillus sp</i>		$5.0 \times 10^4$
<b>IC</b>	<i>Aspergillus sp</i>		$5.0 \times 10^4$
	<i>Gliocladium sp</i>		
	<i>Paecilomyces sp</i>		
<b>IIC</b>	<i>Aspergillus sp</i>		$1.0 \times 10^5$
	<i>Gliocladium sp</i>		
<b>Conteo de Bacterias</b>			
<b>IA</b>	<i>Azotobacter sp</i>		$1.6 \times 10^7$
<b>IIA</b>	<i>Azotobacter sp</i>		$8.0 \times 10^6$
<b>IB</b>	<i>Pseudomona sp</i>		$7.3 \times 10^7$
<b>IIB</b>	<i>Pseudomona sp</i>	$2.10 \times 10^8$	$3.3 \times 10^7$
<b>IC</b>	<i>Serratia sp</i>		$1.4 \times 10^7$

	<i>Sarcina sp</i>		$5.0 \times 10^6$
	<i>Pseudomona sp</i>		$2.4 \times 10^7$
<b>IIC</b>	<i>Pseudomona sp</i>		$7.0 \times 10^6$
<b>Conteo de Actinomicetos</b>			
<b>IA</b>	<i>Athrobacter sp</i>		$1.8 \times 10^7$
<b>IIA</b>	<i>Athrobacter sp</i>		$2.5 \times 10^7$
<b>IB</b>	<i>Streptomyces sp</i>		$2.8 \times 10^7$
	<i>Athrobacter sp</i>		$3.5 \times 10^7$
<b>IIB</b>	<i>Athrobacter sp</i>	$8.0 \times 10^7$	$6.0 \times 10^7$
<b>IC</b>	<i>Streptomyces sp</i>		$5.0 \times 10^6$
	<i>Athrobacter sp</i>		$2.5 \times 10^7$
<b>IIC</b>	<i>Athrobacter sp</i>		$1.5 \times 10^7$

La *Pseudomona* es una de las especies esenciales para los procesos de biorremediación del suelo, ya que es un saprofito, oportunista, cosmopolita, metabólicamente versátil, siendo una buena candidata para las aplicaciones biotecnológicas, tales como agricultura, biorremediación y biotecnología, (López *et al.*, 2006).

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

1. La caracterización físico-química del suelo proporcionó información relevante para la aplicación del tratamiento, mostrando las condiciones requeridas para optimizar el proceso de biorremediación. Esto debido a que el desempeño de la biorremediación es una función conjunta del suelo contaminado, el contaminante y la población microbiana, por lo que los parámetros físico-químicos del suelo definieron el comportamiento de los mismos y la disponibilidad de nutrientes en forma natural. En este sentido, condiciones como CIC, pH, Humedad, bases y nutrientes del suelo tipo franco, fueron mejoradas mediante la aplicación del biosólido, favoreciendo las condiciones óptimas que garantizaron la estimulación de los microorganismos logrando una remediación elevada del organoclorado identificado como toxafeno.

2. El estudio microbiológico, permitió evidenciar consorcios microbianos, capaces de degradar organoclorados, lográndose identificar algunos géneros de gran significancia en la transformación del contaminante, tal es el caso de las pseudomonas y grupos de actinomicetos reportados como biodegradadores de este tipo de residuos. La marcada incidencia del crecimiento microbiano, es indicativo fundamental del potencial biodegradador de éste grupo de microorganismos.

3. El establecimiento de la corrida cromatográfica aplicada para determinar los tipos y concentraciones de organoclorados, permitió identificar y cuantificar altas concentraciones de toxafeno como único contaminante orgánico presente en las muestras de suelo analizado.

4. La incorporación del biosólido utilizado como fuente de nutrientes esenciales, efectivamente permite estimular a los microorganismos presentes en el suelo contaminado por el organoclorados toxafeno optimizando el proceso de biorremediación.

5. El biosólido utilizado, actuó en el suelo como un fertilizante orgánico induciendo de esta manera el proceso de biorremediación en el suelo contaminado, el cual, aun con el

grado de afectación que presentaba, cumplía con los requerimientos fisicoquímicos y microbiológicos necesarios para la aplicación satisfactoria de esta técnica.

6. En el lapso establecido de dos meses y medio fue posible alcanzar niveles elevados de biorremediación. Mediante la adición de biosólidos se aportó los nutrientes necesarios para las funciones metabólicas de la micro-fauna presente en el suelo.

7. Queda demostrado que este método de biorremediación representa una alternativa viable para el tratamiento de los suelos contaminados con toxafeno y para el manejo ambiental de lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas, los cuales son vertidos generalmente a cuerpos de agua sin tratamiento algunos llegando incluso a contaminar.

8. La biorremediación, es una alternativa económicamente factible, debido a que el papel fundamental lo cumplen los microorganismos del suelo, quienes hacen uso del contaminante como fuente de carbono.

En base a los resultados obtenidos en esta investigación se recomienda:

1. Realizar estudios a fin de estimar y establecer los requerimientos físicos, químicos y microbiológicos que deben cumplir los biosólidos una vez colectados en plantas de tratamiento, con fin de fomentar su utilización en la remediación de suelos contaminados con toxafeno.
2. Ampliar estudio como este mediante pruebas de factibilidad de colonias microbianas presentes en los tratamientos de suelos contaminados y su implicación en el proceso de biorremediación.
3. Realizar pruebas pilotos a escala de laboratorio que permitan la manipulación plena de variables que interfieren en el proceso de biorremediación a fin de evaluar la incidencia directa o indirecta de algunos parámetros que permitan optimizar los resultados.
4. Establecer, en estudios posteriores de este tipo, periodos más largos para el desarrollo de los ensayos y así lograr mayor remediación del contaminante.
5. Establecer convenios con entidades que permitan el uso de instalaciones y laboratorios esenciales para el control de variables a manipular en estudios de esta índole; a fin de contar con información clara y oportuna del comportamiento de los ensayos e interferir en las variables de ser necesario.



## **Limitaciones**

Entre las limitaciones más relevantes que se afrontaron durante el desarrollo de este tema se destacan:

1. El acceso a la información nacional es limitada, lo que dificulta el enriquecimiento documental que permita el desarrollo más eficaz del proyecto.
2. Si bien se refiere el proceso de biorremediación como una alternativa viable económicamente, los análisis de laboratorios para el monitoreo del mismo son excesivamente costosos, por lo que se debe tomar en cuenta lo planteado en las recomendaciones con respecto a este punto.

## REFERENCIAS

Acosta G., Ramírez, E. y Gutiérrez, E. (s/f). **Efectos de la Aplicación del Lodo Residual Municipal sobre Suelos y Plantas**. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. [Documento en línea]. Disponible en: <http://www.cepis.ops-oms.org/bvsaidis/aresidua/peru/ventar006.pdf>.

Álvarez P. y Guevara E. (2003). **Biorremediación y Atenuación Natural de Acuíferos Contaminados por Sustancias Químicas Peligrosas**. Primera Edición. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela.

Álvarez J. (2007). **Utilización de fangos digeridos en el proceso de biorremediación de residuos sólidos petrolizados**. [Documento en Línea]. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos44/biorremediacion-residuos/biorremediacion-residuos.shtml>.

Agency for Toxic Substances & Disease Registry, ATSDR, (1996). **Toxaphene, Summary of public health**. [Documento en Línea]. Disponible en: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs94.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs94.html).

Araujo I., Montilla, M., Cárdenas C., Herrera L., Angulo N. y Morillo G. (2006). **Lodos Estabilizados y Cepas Bacterianas En la Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos**. [Revista Interciencia INCI v.31 n.4 Caracas abr. Caracas, Venezuela. [Revista en línea]. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-18442006000400006&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-18442006000400006&script=sci_arttext).

Acuerdo Regional de Cooperación para la Promoción de la Ciencia y Tecnología Nucleares en América Latina, Arcal (2009). **Protocolo de muestreo de suelos**. Proyecto “environmental radionuclides as indicators of land degradation in latin american, caribbean and antarctic ecosystems”, rla 5/051 (Arcal c). [Documento en línea]. Disponible en: <http://arcal.unsl.edu.ar/.../protocolo%20de%20muestreo%20ver%202>.

Barnett, H. y Hunter, B. (1999). **Illustrated genera of imperfect fungi**. Fourth edition). The American Phytopathological Society. Pilot Knob Rodal, St Paul, Minnesota, USA.

Calva, L. y Torres, M., (1998). **Plaguicidas Organoclorados**. Laboratorio de Ecosistemas Costeros. Departamento de Hidrobiología. D .C.B .S. U A M I. [Documento en línea]. Disponible en: <http://www.izt.uam.mx/contactos/n30ne/pdf/plaga.pdf>.

Castaño, J. (1986). **Prácticas de laboratorio de fitopatología**. Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Protección Vegetal. Zamorano, Honduras.

Chicón, L. (2003). **Especiación de Metales Pesados en Lodos de Aguas Residuales de Origen Urbano y Aplicación de Lodos como Mejoradores de suelos**. I.E.S. Virgen de Belén, Málaga. [Documento en Línea]. Disponible en: <http://www.juntadeandalucia.es/averroes/~29009272/2003/articulos/22.pdf>.

Copaja, S. (2007). **Estimación de la Contaminación Ambiental por Plaguicidas en Suelos Agrícolas de la Isla de Pascua, V Región**.

Dágner, G. (2003). **Gestión de Biosólidos en Colombia**. Artículo científico. Revista ACODAL. Volumen 202. Página 35. Colombia.

Di Rienzo, J., Casanoves, F., Gonzalez, L., Tablada, E., Díaz, M., Robledo, C. y Balzarini, M. (2001). **Estadística para las Ciencias Agropecuarias**. Cuarta Edición. Córdoba, Argentina.

EPA (2000). **Aplicación de biosólidos al terreno**. Folletos Informativos de Biosólidos de la EPA. [Documento en Línea]. Disponible en: <http://www.estrucplan.com.ar/Producciones/entrega.asp?IDEntrega=2290>.

EPA (s/f). **Reglamento Municipal de lodos de depuración Bajo la Ley de Agua Limpia** Sección 503: Un modelo para la exposición y evaluación de riesgos de los RSU-Compost. Publicación: 600A94023. [Documento en Línea]. Disponible en: <http://www.epa.gov/ogwdw000/agua/estandares.html>.

EPA (s/f). **Designing a Sampling and Analysis Plan for Surface Soils**. [Documento en Línea]. Disponible en: <http://www.epa.gov/superfund/health/conmedia/soil/pdfs/ssg496>.

Fernández, C; Labrador, H; Llobregat M; Méndez L, Bastidas, H; Sien, B. (2009). **Efectos del estiércol equino y del humus líquido en el proceso de biodegradación de un suelo contaminado con petróleo**. Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela. [Documento en Línea]. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-40652009000200005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-40652009000200005&script=sci_arttext).

Ercoli, E; Gálvez, J; Di Paola, M; Cantero, J; Videla, S; Medaura, M; Bauzá, J. (2001). **Análisis y Evaluación de Parámetros Críticos en Biodegradación de Hidrocarburos en Suelo**. Laboratorio de Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza. [Documento en Línea]. Disponible en: <http://www.studios2biorremediacionybioaumentacion.mht>.

Guzmán, C. y Campos C. (2004). **Indicadores de Contaminación Fecal en Biosólidos Aplicados en Agricultura**. Revista Universitas Scientiarum, enero-junio, año/vol. 9, N° 001. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. Universidad Autónoma del Estado de México. [Documento en Línea]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/499/49990107.pdf>.

Global Environment Facility, GEF y United Nations Development Programme PNUD (s/f). **Proyecto Mejoramiento del Manejo y de la Contención de la Liberación de Pesticidas COPs en Nicaragua.**

López, J., Quintero, G., Guevara, A., Jaimes, D., Gutierrez, S. y Garcia, J. (2006). **Bioremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos Derivados del Petróleo.** Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. [Documento en Línea]. Disponible en: [http://www.unicolmayor.edu.co/invest\\_nova/NOVA/ARTREVIS1\\_5.pdf](http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ARTREVIS1_5.pdf).

**Decreto N° 2635. (Normas para el Control de la Recuperación de Materiales Peligrosos y el Manejo de los Desechos Peligrosos).** Gaceta Oficial Extraordinaria de la República Bolivariana de Venezuela, No 5245 (Agosto 03, 1998).

Palma R. (2004). **Plaguicidas peligrosos en Nicaragua.** Ministerio Agropecuario y Forestal. Managua, Nicaragua.

Portland Estate University. (2010). **El pH del suelo.** Teaching ecological complexity. [Documento en Línea]. Disponible en: <http://ecoplexity.org/node/593?page=0.0>.

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), (1999). **Comité Intergubernamental de Negociación de un Instrumento Internacional jurídicamente vinculante para la Aplicación del Procedimiento de Consentimiento Fundamentado previo a ciertos Plaguicidas y Productos Químicos Peligrosos Objeto de Comercio Internacional. CFP - Documento de orientación para la adopción de decisiones en relación con un producto químico prohibido o rigurosamente restringido.** Unep/fao/pic/inc.6/6/add.6. [Documento en Línea]. Disponible en: <http://www.pic.int/incs/inc6/6f/Spanish/6-A6S.PDF>.

Quintana O., Blandón J., Flores, A. y Mayorga E., (1983). **Manual de Fertilización para Suelos de Nicaragua.** Universidad Nacional Agraria CENIDA. Managua, Nicaragua.

Quinteiro M., Andrade M. y De Blas, E.(1998). **Efecto de la Adición de un Lodo Residual sobre las Propiedades del Suelo: Experiencias de Campo.** Edafología N° 5. Departamento de Biología Vegetal y Ciencia del Suelo. Facultad de Ciencias. Universidad de Vigo. España. [Documento on Line]. Disponible en: <http://edafologia.ugr.es/revista/tomo5/a1t.htm>

Rojas J., (2008). **Sanear de Suelos Contaminados con Hidrocarburos por Medio de Bioremediación.** [Documento en Línea]. Disponible en: <http://www.Factores.influyet.en.la.bio.rremediacion.mht>.

Reyes F., Suárez A., Campos N. y Gómez M. (2006). **Biodegradación del Organoclorado-Aldrin a Partir de Cepas Aisladas de un Consorcio Bacteriano Aeróbico de la Ciénaga Grande de Santa Marta.** Resúmenes de ponencias," Los humedales, salvavidas contra la pobreza". Día mundial de los humedales, Ramsar.

[Documento en línea]. Disponible en:  
**[http://www.ramsar.org/pdf/wwd/6/wwd2006\\_rpts\\_colombia01.pdf](http://www.ramsar.org/pdf/wwd/6/wwd2006_rpts_colombia01.pdf)**

Sánchez J. y Rodríguez J., (s/f). **Biorremediación. Fundamentos y aspectos microbiológicos.** Universidad de Oviedo. [Documento en Línea]. Disponible en:[http://ingenierosdeminas.org/docu/documentos/fundamentos\\_%20biorremediacion.pdf](http://ingenierosdeminas.org/docu/documentos/fundamentos_%20biorremediacion.pdf).

Sergueichuck, M. (1986). **Guía metodológica para clases prácticas de microbiología.** Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Managua, Nicaragua.

Standard methods for the examination of water and wastewater (2005). **Fecal coliform procedure.** Methods 9221E. 21<sup>th</sup> edition.

Tricárico F (s/f). **Organoclorados.** [Documento en Línea]. Disponible en: <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Organoclor.htm>.

Vaughan, M y Romero J (2000). **Reducción del escurrimiento de plaguicidas al Mar Caribe.** Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales (MARENA), Managua, Nicaragua. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.

Zapata A., Santamaría M., Álvarez M., Salazar S. y Müller U. (1996). **Residuos de plaguicidas organoclorados en leche vacuna, Nicaragua.** Publicación del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, 4 de marzo. [Documento en línea]. Disponible en: <http://hist.library.paho.org/Spanish/BOL/v120n6p483.pdf>.

## **ANEXO A**

### **Resultados oficiales caracterización físico-química del suelo y el biosólido**

FECHA: 10 de Febrero del 2010

Dr. Sc. Leonardo García C  
Director



FINCA : Residencial Ciudad Real  
DPTO. Y MCPIPO : Managua

FECHA: 11 de Marzo del 2010

[illegible]

Msc. Leonardo García C.  
Director



[illegible]

MSC. Leonardo Garcia C.  
Director LABSA

4

**Comunidad :** El Picacho  
**Departamento :** Chinandega

MSc. Leonardo Garcia C.  
Director LABSA



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**  
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE  
LABORATORIO DE SUELOS Y AGUA

**INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE LABORATORIO**

Rango de Clasificación Aproximada de Nutrientes en Suelos  
de Nicaragua (Quintana et al., 1983)

pH	Clasificación
< 4.6	Extremadamente ácido
4.6 - 5.2	Muy frecuentemente ácido
5.2 - 5.6	Fuertemente ácido
5.6 - 6.2	Medianamente ácido
6.2 - 6.6	Ligeramente ácido
6.6 - 6.8	Muy ligeramente ácido
6.8 - 7.2	Neutro
7.2 - 7.4	Muy ligeramente alcalino
7.4 - 7.8	Ligeramente alcalino
7.8 - 8.4	Medianamente alcalino
8.4 - 8.8	Fuertemente alcalino
8.8 - 9.4	Muy frecuentemente alcalino
> 9.4	Extremadamente alcalino

Capacidad de Intercambio Catiónico.

<5	meq/100 g suelo	Muy baja
5 - 15	meq/100 g suelo	Baja
15 - 25	meq/100 g suelo	Media
25 - 40	meq/100 g suelo	Alta
>40	meq/100 g suelo	Muy alta

Rango de contenidos de macronutrientes.

Nutrientes	Unidades	Pobre	Medio	Alto
Nitrógeno (N)	%	< 0.07	0.07 - 0.15	>0.15
Fósforo (P)	ppm	< 10	10 - 20	>20
Potasio (K)	meq/100 g	< 0.2	0.2 - 0.3	>0.3
Calcio (Ca)	meq/100 g	< 2.5	2.5 - 5.5	>5.5
Magnesio (Mg)	meq/100 g	< 0.3	0.3 - 1.0	>1.0
Mat. Orgánica (MO)	%	< 2	2 - 4	>4

Rangos de contenidos de micronutrientes (extracción Olsen )

Nutriente	Unidades	Muy bajo	Bajo	Medio	Alto
Hierro (Fe)	ppm	5 - 10	10 - 16	16 - 21	21-2
Zinc (Zn)	ppm	1 - 2	2.1 - 3.1	3.1 - 4.2	4.2 - 5.3
Cobre (Cu)	ppm	0.2 - 0.8	0.8 - 1.5	1.5 - 2.2	2.2 - 3.0



## **ANEXO B**

### **Resultados oficiales caracterización microbiológica del suelo y el biosólido**





*Universidad Nacional Agraria*  
*Facultad de Agronomía*  
*Departamento de Protección Agrícola y Forestal*

*"Por un Desarrollo Agrario  
Integral y Sostenible"*

Managua, 22 de Junio del 2010

**Análisis patológico suelo  
(Hongos, Actinomycetes y Bacterias)**

Muestra	Géneros de hongos	Unidades formadoras de colonias (UFC)
1	<i>Cladosporium</i> sp.	$8 \times 10^3$

Muestra	Géneros de Bacterias	Unidades formadoras de colonias (UFC)	Géneros Actinomicetos	Unidades formadoras de colonias (UFC)
	<i>Sarcina</i> sp	$10 \times 10^7$	<i>Micromonospora</i> sp	$2 \times 10^7$
	<i>Bacillus</i> sp	$11 \times 10^7$	<i>Nocardia</i> sp	$1 \times 10^7$
			<i>Arthrobacter</i> sp	$5 \times 10^7$

Observaciones se observó un pobre crecimiento de microorganismos

*Yanet*  
Ing. Yanet Gutiérrez Gaitán



*Verónica Guevara*  
Lic. Verónica Guevara



CERTIFICADO DE ANALISIS

LAB-MB-0037

EMPRESA / PROYECTO / CONSULTOR		DIRECCION			TELEFONO
Tesis de Bioremediación		Veracruz, Managua			-
ATENCION	CARGO	E- mail	FAX	TELEFONO	
Luisa Duran / Marvellis Ladera	Tesistas	-	-	8733-5836	
FECHAS DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO			FECHA DE EMISION DE CERTIFICADO DE ANALISIS	CADENA DE CUSTODIA	NUMERO DE MUESTRA
INGRESO	INICIO DE ANALISIS	FINAL DE ANALISIS			
12/02/2010	16/02/2010	18/02/2010	26/02/2010	0242	Dos (2)
TIPO DE MUESTRA					
Lodo Residual					

Fecha de Muestro		12/02/2010	
Muestreado por		Tesistas	
Codificación Cliente		NR	
Observaciones de Ubicación		Veracruz, Managua	
Codificación CIEMA		LA-1002-0190	
METODO SM	PARAMETRO	UNIDAD	VALOR DE CONCENTRACION
9221E	Coliformes fecales	NMP/100ml	$1,6 \times 10^7$
9215A y 9215B	Recuento de mesófilos	UFC/gr	$2,2 \times 10^7$

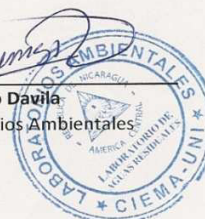
Leyenda de Certificado de Analisis: **Neg** = Negativo, **NR** = No Reporta  
Metodo Internacional empleado: SM = Standard Methodos, 21st. 2005

Autorizado por:

Msc. Lic. Elda Escobar Valdivia  
Resp. Lab. Microbiología de Aguas



Msc. Lic. Roberto Davila  
Coordinador de Laboratorios Ambientales



Declaramos que este certificado de análisis será de uso exclusivo del cliente, el laboratorio se reserva los derechos de confidencialidad e imparcialidad del informe.



Universidad Nacional de Ingeniería  
Centro de Investigación y Estudios en Medio Ambiente  
Laboratorios Ambientales  
CIEMA-UNI



CERTIFICADO DE ANALISIS

LAB-MB-0042

EMPRESA / PROYECTO / CONSULTOR			DIRECCION		TELEFONO
Tesis de Bioremediación			Veracruz, Managua		-
ATENCION	CARGO	E- mail	FAX	TELEFONO	
Luisa Durán / Marvellis Ladera	Tesistas	-	-	8733-5842	
FECHAS DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO			FECHA DE EMISION DE CERTIFICADO DE ANALISIS	CADENA DE CUSTODIA	NUMERO DE MUESTRA
INGRESO	INICIO DE ANALISIS	FINAL DE ANALISIS			
16/02/2010	22/02/2010	24/02/2010	26/02/2010	252	Dos(2)
TIPO DE MUESTRA					
Lodo residual (esterilizado)					

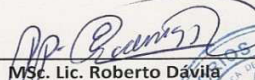
Fecha de Muestreo		16/02/2010	
Muestreado por		Tesistas	
Codificación Cliente		NR	
Observaciones de Ubicación		Veracruz, Managua	
Codificación CIEMA		LA-1002-0252	
METODO SM	PARAMETRO	UNIDAD	VALOR DE CONCENTRACION
9221E	Coliformes fecales	NMP/100ml	$9.0 \cdot 10^6$
9215A y 9215B	Recuento de mesófilos	UFC/gr	$>3.0 \cdot 10^5$

Leyenda de Certificado de Análisis: **Neg** = Negativo, **NR** = No Reporta  
Método Internacional empleado: SM = Standard Methods, 21st. 2005

Autorizado por:

  
MSc. Lic. Elda Escobar Valdivia  
Resp. Lab. Microbiología de Aguas



  
MSc. Lic. Roberto Dávila  
Coordinador de Laboratorios Ambientales



Declaramos que este certificado de análisis será de uso exclusivo del cliente, el laboratorio se reserva los derechos de confidencialidad e imparcialidad del informe.



"Por un Desarrollo Agrario  
Integral y Sostenible"

*Universidad Nacional Agraria*  
*Facultad de Agronomía*  
*Departamento de Protección Agrícola y Forestal*

Managua, 12 de Mayo del 2010

**Análisis patológico suelo  
(Hongos, Bacterias y Actinomicetos)**

**Análisis de hongos del suelo**

Muestra	Géneros de hongos	Unidades formadoras de colonias (UFC)
I A	<i>Aspergillus</i> sp <i>Aspergillus niger</i>	$1 \times 10^5$
II A	<i>Aspergillus</i> sp <i>Paecilomyces</i> sp	$1.1 \times 10^6$
I B	<i>Aspergillus</i> sp	$3 \times 10^6$
II B	<i>Aspergillus</i> sp	$5 \times 10^4$
I C	<i>Aspergillus</i> sp <i>Gliocladium</i> sp. <i>Paecilomyces</i> sp	$5 \times 10^4$
IIC	<i>Aspergillus</i> sp <i>Gliocladium</i> sp	$1 \times 10^5$

Managua Km. 12½ Carretera Norte  
Telefax: 2632609  
Tel. 2331473 Ext. 202

Apartado Postal 453  
dpaf@fagro.una.edu.ni  
www.una.edu.ni



### Análisis de Bacterias y Actinomicetes del suelo

Muestra	Géneros de Bacterias	Unidades formadoras de colonias (UFC)
I A	<i>Azotobacter sp</i>	16 x 10 <sup>6</sup>
II A	<i>Pseudomona sp</i>	8 x 10 <sup>6</sup>
I B	<i>Pseudomona sp</i>	73 x 10 <sup>6</sup>
II B	<i>Pseudomona sp</i>	33 x 10 <sup>6</sup>
I C	<i>Serratia sp</i> <i>Sarcina sp</i> <i>Pseudomona sp</i>	14 x 10 <sup>6</sup> 5 x 10 <sup>6</sup> 24 x 10 <sup>6</sup>
IIC	<i>Pseudomona sp</i>	7 x 10 <sup>6</sup>
Muestra	Géneros de Actinomicetes	Unidades formadoras de colonias (UFC)
I A	<i>Athrobacter sp</i>	18 x 10 <sup>6</sup>
II A	<i>Athrobacter sp</i>	25x 10 <sup>6</sup>
I B	<i>Streptomyces sp</i> <i>Athrobacter sp</i>	28 x 10 <sup>6</sup> 35 x 10 <sup>6</sup>
II B	<i>Athrobacter sp</i>	60 x 10 <sup>6</sup>
I C	<i>Streptomyces sp</i> <i>Athrobacter sp</i>	5x 10 <sup>6</sup> 25x 10 <sup>6</sup>
IIC	<i>Athrobacter sp</i>	15 x 10 <sup>6</sup>

#### Método de dilución seriada de suelo (Castaño-Zapata, 1986)

- Remover el suelo pesar 10 g poner en 90 ml H<sub>2</sub>O destilada, estéril. Se deja su reposo 5 min. (dilución 1:10<sup>-2</sup>)  
De la dilución 10<sup>-2</sup> se transfiere asépticamente 1 ml al tubo con 9 ml de agua destilada estéril (10<sup>-3</sup>). Se mezcla bien golpeando el tubo con el dedo índice

Managua Km. 12½ Carretera Norte  
Telefax: 2632609  
Tel. 2331473 Ext. 202

Apartado Postal 453  
dpaf@fagro.una.edu.ni  
www.una.edu.ni



Universidad Nacional de Ingeniería  
Centro de Investigación y Estudios en Medio Ambiente  
Laboratorios Ambientales  
CIEMA-UNI



CERTIFICADO DE ANALISIS

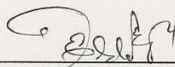
LAB-MB-0115

EMPRESA / PROYECTO / CONSULTOR		DIRECCION		TELEFONO	
Tesis de Bioremediación		Km 33½ San Benito, Managua		-	
ATENCION		CARGO	E- mail	FAX	TELEFONO
Luisa Duran / Marvellis Ladera		Tesistas	-	-	8733-5836
FECHAS DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO			FECHA DE EMISION DE CERTIFICADO DE ANALISIS	CADENA DE CUSTODIA	NUMERO DE MUESTRA
INGRESO	INICIO DE ANALISIS	FINAL DE ANALISIS			
26/05/2010	26/05/2010	31/05/2010	01/06/2010	0405	Dos (2)
TIPO DE MUESTRA					
Suelo					
Fecha de Muestro			25/05/2010		
Muestreado por			Tesistas		
Codificación Cliente			NR		
Observaciones de Ubicación			IB	IIB	
Codificación CIEMA			LA-1005-0653	LA-1005-0654	
METODO SM	PARAMETRO	UNIDAD	VALOR DE CONCENTRACION		
9221E	Coliformes fecales	NMP/100ml	3,3*10 <sup>3</sup>	3,3*10 <sup>2</sup>	


Leyenda de Certificado de Analisis: **Neg** = Negativo, **NR** = No Reporta

Metodo Internacional empleado: SM = Standard Methods, 21st. 2005

Autorizado por:

  
Msc. Lic. Elda Escobar Valdivia  
Resp. Lab. Microbiología de Aguas



  
Msc. Lic. Roberto Davila  
Coordinador de Laboratorios Ambientales



Declaramos que este certificado de análisis será de uso exclusivo del cliente, el laboratorio se reserva los derechos de confidencialidad e imparcialidad del informe.

## **ANEXO C**

### **Resultados oficiales concentración de organoclorados**

INFORME DE RESULTADO

No. 14452

PROPIETARIO: LUISA DURAN Y MARVELIS LADESA

ANÁLISIS SOLICITADO: CLORINADOS

FECHA DE RECEPCIÓN 27-04-10

PRODUCTO: SUELO

FECHA DE ANÁLISIS: 22-05-10

CODIGO DE LABORATORIO

M-357

PROCEDENCIA DE LA MUESTRA

RESULTADO

CHINANDEGA

TOXAFENO = 545.2 PPM

METODO DE REFERENCIA: CENTRAL AMERICAN PESTICIDES LABORATORY TRAINING MANUAL

% DE RECUPERACION:

OBSERVACIONES:

LOS RESIDUOS DE ORGANOCLORIDINADOS BUSCADO DE RUTINA EN NUESTRO LABORATORIO SON:

DDT Y METABOLITOS, LINDANO, OXYCLORDANO, HEPTACLORO EPOXIDO, DIELDRIN, ALDRIN

ENDRIN, BHC, HCB

LIC. CESAR ORLANDO GUTIERREZ

Firma y Nombre del Analista



LIC. PATRICIA CASACHE GAMEZ

Firma y Nombre del Responsable

Teléfonos: 2267-4002 - 2267-4005 - 2267-4007 - Fax: 2267-0211

DT-0009



GOBIERNO DE NICARAGUA  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL  
LABORATORIO NACIONAL DE RESIDUOS BIOLÓGICOS  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS AGROSANITARIOS

**MAGFOR**  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL

**INFORME DE RESULTADO**

No. 14453

PROPIETARIO: LUISA DURAN Y MARVELIS LADESA

ANÁLISIS SOLICITADO: ORGANOCLOLINADOS

FECHA DE RECEPCIÓN 27-04-10

PRODUCTO: SUELO

FECHA DE ANÁLISIS: 20-05-10

CODIGO DE LABORATORIO

M-400

**PROCEDENCIA DE LA MUESTRA**

**RESULTADO**

CHINANDEGA  
SUELO IA

TOXAFENO ± 233.0 PPM

METODO DE REFERENCIA: CENTRAL AMERICAN PESTICIDES LABORATORY TRAINING MANUAL

% DE RECUPERACION: \_\_\_\_\_

**OBSERVACIONES:**

LOS RESIDUOS DE ORGANOCLOLINADOS BUSCADO DE RUTINA EN NUESTRO LABORATORIO SON:

DDT Y METABOLITOS, LINDANO, OXYCLORDANO, HEPTACLORO EPOXIDO, DIELDRIN, ALDRIN

ENDRIN BHC, HCB

LIC. CESAR OBANDO GUTIERREZ

Firma y Nombre del Analista



LIC. PATRICIA GARCACHE GAMEZ

Firma y Nombre del Responsable

Teléfonos: 2267-4002 • 2267-4005 • 2267-4007 • Fax: 2267-0211

DT-0009



GOBIERNO DE NICARAGUA  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL  
LABORATORIO NACIONAL DE RESIDUOS BIOLÓGICOS  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS AGROSANITARIOS

**MAGFOR**  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL

**INFORME DE RESULTADO**

No. 14456

PROPIETARIO: LUISA DURAN Y MARVELIS LADESA  
ANÁLISIS SOLICITADO: ORGANOCLORINADOS FECHA DE RECEPCIÓN: 27-04-10  
PRODUCTO: SUELO FECHA DE ANÁLISIS: 20-05-10

CODIGO DE LABORATORIO

M-402

PROCEDENCIA DE LA MUESTRA

CHINANDEGA  
SUELO II A

RESULTADO

TOXAFENO = 273.0PPM

METODO DE REFERENCIA: CENTRAL AMERICAN PESTICIDES LABORATORY TRAINING MANUAL

% DE RECUPERACION: \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

LOS RESIDUOS DE ORGANOCLORINADOS BUSCADO DE RUTINA EN NUESTRO LABORATORIO SON:

DDT Y METABOLITOS, LINDANO, OXYCLORDANO, HEPTACLORO EPOXIDO, DIELDRIN, ALDRIN

ENDRIN BHC, HCB

  
LIC. CESAR USANDO GUTIERREZ

Firma y Nombre del Analista



  
LIC. PATRICIA CARRACHE GAMEZ

Firma y Nombre del Responsable

Teléfonos: 2267-4002 • 2267-4005 • 2267-4007 • Fax: 2267-0211

DT-0009

GOBIERNO DE NICARAGUA  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL  
LABORATORIO NACIONAL DE RESIDUOS BIOLÓGICOS  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS AGROSANITARIOS

INFORME DE RESULTADO

No. 14455

PROPIETARIO: LUISA DURAN Y MARVELIS LADESA

ANÁLISIS SOLICITADO: ORGANOCLORIDADOS

FECHA DE RECEPCIÓN 27-04-10

PRODUCTO: SUELO

FECHA DE ANÁLISIS: 20-05-10

CODIGO DE LABORATORIO

M-401

PROCEDENCIA DE LA MUESTRA

RESULTADO

CHINANDEGA  
SUELO I B

TOXAFENO = 39,5 PPM

METODO DE REFERENCIA: CENTRAL AMERICAN PESTICIDES LABORATORY TRAINING MANUAL

% DE RECUPERACION: \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

LOS RESIDUOS DE ORGANOCLORIDADOS BUSCADO DE RUTINA EN NUESTRO LABORATORIO SON:

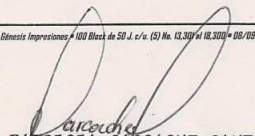
DDT Y METABOLITOS? LINDANO, OXYCLORDANO, HEPTACLORO EPOXIDO, DIELDRIN, ALDRIN

ENDRIN, BHC, HC B.

  
LIC. CESAR OANDO GUTIERREZ

Firma y Nombre del Analista



  
LIC. PATRICIA CARCACHE GAMEZ

Firma y Nombre del Responsable

Teléfonos: 2267-4002 • 2267-4005 • 2267-4007 Fax: 2267-0211

DT- 0009



GOBIERNO DE NICARAGUA  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL  
LABORATORIO NACIONAL DE RESIDUOS BIOLÓGICOS  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS AGROSANITARIOS

**MAGFOR**  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL

**INFORME DE RESULTADO**

No. 14458

PROPIETARIO: LUISA DURAN Y MARVELIS LADESA  
ANÁLISIS SOLICITADO: ORGANOCLORINADOS FECHA DE RECEPCIÓN 27-04-10  
PRODUCTO: SUELO FECHA DE ANÁLISIS: 20-05-10

CODIGO DE LABORATORIO

M-404

**PROCEDENCIA DE LA MUESTRA**

**RESULTADO**

CHINANDEGA  
SUELO II B

TOXAFENO = 40.0 PPM

METODO DE REFERENCIA: CENTRAL AMERICAN PESTICIDES LABORATORY TRAINING MANUAL

% DE RECUPERACION: \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

LOS RESIDUOS DE ORGANOCLORINADOS BUSCADO DE RUTINA EN NUESTRO LABORATORIO SON:

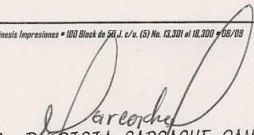
DDT Y METABOLITOS, LINDANO, O XYCLORDANO, HEPTACLORO EPOXIDO, DIELDRIN, ALDRIN

ENDRIN, BHC, HCB

  
LIC. CESAR OSANDO GUTIERREZ

Firma y Nombre del Analista



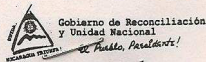
  
LIC. PATRICIA CARGACHE GAMEZ

Firma y Nombre del Responsable

Teléfonos: 2267-4002 • 2267-4005 • 2267-4007 • Fax: 2267-0211

DT-0009





GOBIERNO DE NICARAGUA  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL  
LABORATORIO NACIONAL DE RESIDUOS BIOLÓGICOS  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS AGROSANITARIOS

**MAGFOR**  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL

INFORME DE RESULTADO

No. 14457

PROPIETARIO: LUISA DURAN Y MARVELIS LADESA

ANÁLISIS SOLICITADO: ORGANOCLORIDOS

FECHA DE RECEPCIÓN 27-04-10

PRODUCTO: SUELO

FECHA DE ANÁLISIS: 20-05-10

CODIGO DE LABORATORIO

M-403

PROCEDENCIA DE LA MUESTRA

RESULTADO

CHINANDEGA  
SUELO IC

TOXAFENO = 84.24 PPM

METODO DE REFERENCIA: CENTRAL AMERICAN PESTICIDES LABORATORY TRAINING MANUAL

% DE RECUPERACION: \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES:

LOS RESIDUOS DE ORGANOCLORIDADO BUSCADO DE RUTINA EN NUESTRO LABORATORIO SON:

DDT Y METABOLITOS, LINDANO, OXYCLORDANO, HEPTACLORO EPOXIDO, DIELDRIN, ALDRIN

ENDRIN, BHC, HCB

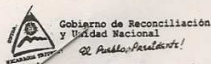
LIC. CESAR OBANDO GUTIERREZ  
Firma y Nombre del Analista



LIC. PATRICIA CARACHE GAMEZ  
Firma y Nombre del Responsable

Teléfonos: 2267-4002 • 2267-4005 • 2267-4007 • FAX: 2267-0211

DT-0009



GOBIERNO DE NICARAGUA  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL  
LABORATORIO NACIONAL DE RESIDUOS BIOLÓGICOS  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS AGROSANITARIOS

**MAGFOR**  
MINISTERIO AGROPECUARIO Y FORESTAL

**INFORME DE RESULTADO**

No. 14459

PROPIETARIO: LUISA DURAN Y MARVELIS LADESA

ANÁLISIS SOLICITADO: ORGANOCLORINADOS

FECHA DE RECEPCIÓN 27-4-10

PRODUCTO: SUELO

FECHA DE ANÁLISIS: 20-05-10

CODIGO DE LABORATORIO

M-405

**PROCEDENCIA DE LA MUESTRA**

**RESULTADO**

CHINANDEGA  
SUELO 11 C

TOXAFENO = 91.45 PPM

METODO DE REFERENCIA: CENTRAL AMERICAN PESTICIDES LABORATORY TRAINING MANUAL

% DE RECUPERACION: \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

LOS RESIDUOS DE ORGANOCLORINADOS BUSCADO DE RUTINA EN NUESTRO LABORATORIO SON:

DDT Y METABOLITOS, LINDANO, OXYCLORDANO, HEPTACLORO EPOXIDO, DIELDRIN, ALDRIN

ENDRIN, BHC, HCB

  
LIC. CESAR OBANDO GUTIERREZ

Firma y Nombre del Analista



  
LIC. PATRICIA CARCACHE GAMEZ

Firma y Nombre del Responsable

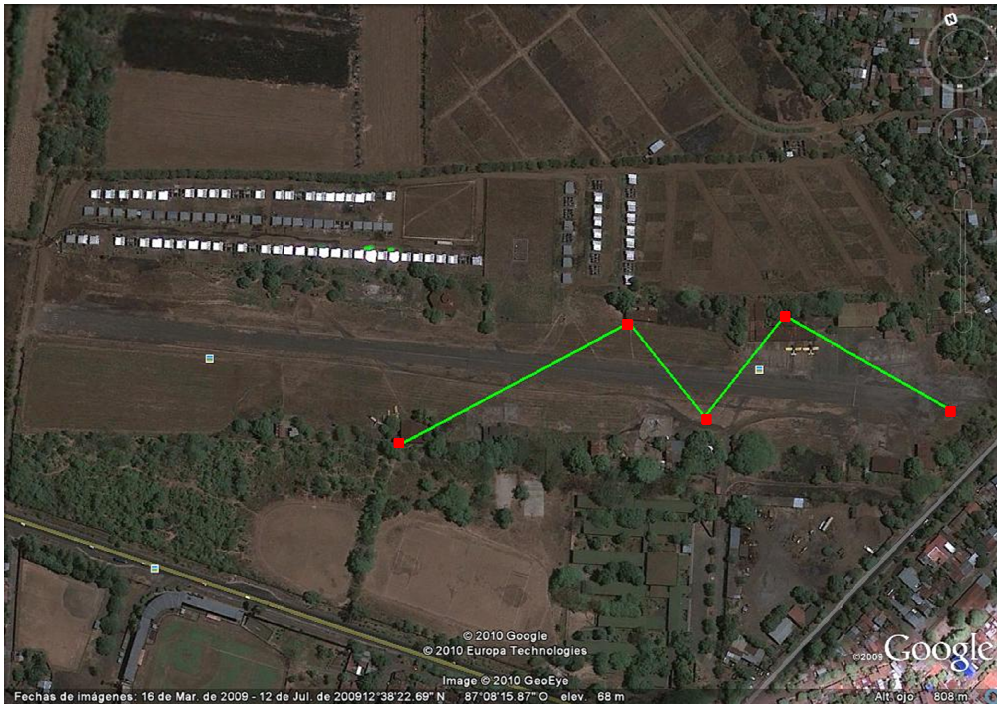
Teléfonos: 2267-4002 • 2267-4005 • 2267-4007 • Fax: 2267-0211

DT-0009

## **ANEXOS D**

### **Fotografía zona de muestreo del suelo y biosólido**





**Zona de muestreo del suelo. Aeródromo agrícola “El Picacho”, Departamento de Chinandega, Nicaragua.**



**Muestreo de biosólido. Planta de tratamiento del residencial Ciudad Real, Veracruz, Managua.**

## **ANEXOS E**

### **Fotografías ensayos de tratabilidad del suelo**





**Microcosmos de suelo contaminado con toxafeno en tratamiento**



**Ensayo de tratabilidad del suelo protegidos ante factores climáticos**





**Suelo contaminado con toxafeno**



**Suelo tratado**





**Monitoreo de parámetros**



**Monitoreo del ensayo**